

UC-NRLF
B 4 247 378







# ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

# PHARMACODYNAMIE

PUBLIÉES PAR

**S. Arloing,** Lyon; **E. Behring,** Marbourg; **C. Binz,** Bonn; **A. de Bókay,** Budapesth; **Ch. Bouchard,** Paris; **V. Cervello,** Palerme; **J. Denys,** Louvain; **P. Ehrlich,** Berlin; **W. Filehne,** Breslau; **Th. R. Fraser,** Edimbourg; **P. Giacosa,** Turin; **E. Gley,** Paris; **F. Henrijean,** Liége; **J. F. Heymans,** Gand; **R. Kobert,** Goerbersdorf; **T. Lauder Brunton,** Londres; **R. Lépine,** Lyon; **O. Liebreich,** Berlin; **M. v. Nencki,** S[t] Pétersbourg; **J. Pohl,** Prague; **G. Pouchet,** Paris; **J. L. Prevost,** Genève; **E. Roux,** Paris; **B. J. Stokvis,** Amsterdam; **E. Van Ermengem,** Gand.

VOLUME V

**avec 20 figures intercalées dans le texte et 15 planches.**



GAND
H. ENGELCKE, ÉDITEUR,
20, RUE DES FOULONS.

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR,
8, PLACE DE L'ODÉON

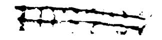
1899.

Crocker

# TABLE DES MATIÈRES DU VOLUME V.










ARBEIT AUS DEM INSTITUTE FÜR EXPERIM. MEDICIN IN St PETERSBURG.

# Zur Frage über die Beziehungen zwischen dem antidiphtherischen Heilserum und dem Diphtherietoxin.

VON

Dr S. DZIERZGOWSKI.

Durch die Versuche von BEHRING und KITASATO (1) wurde zuerst der Beweis erbracht, dass das diphtherische Gift, mit entsprechendem Quantum antidiphtherischen Heilserums gemengt und Thieren subcutan appliciert, weder allgemeine, noch locale schädliche Einwirkung auf den thierischen Organismus auszuüben vermag. Diese Thatsache wurde von allen späteren Forschern bestätigt, so dass über diese Frage heutzutage alle Autoren einig sind. Wenn auch die Wirkung des antidiphtherischen Serums auf das von den Diphtheriebacillen producirte Toxin ausser Zweifel gesetzt worden ist, so sind unsere Kentnisse über die Natur dieser Erscheinung noch recht lückenhaft. In der Literatur finden wir über den fraglichen Gegenstand zwei entgegengesetzte Anschauungen. BEHRING (2) und einige andere Autoren sind der Ansicht, dass bei dem Vermengen des Serums mit dem Toxin chemische Processe im Spiele wären, wobei das Antitoxin des Serums die giftigen Stoffe der Diphtherie unschädlich mache. Dem gegenüber behaupten andere Forscher, mit BUCHNER (3) an der

(1) Deutsche med. Wochenschrift, 1890, Nr 49.

(2) Deutsche med. Wochenschrift, 1894, S. 169.

(3) Münchener med. Wochenschr., 1894, S. 469; Berl. klin. Wochenschr., 1894, S. 73; TIZZONI: Berl. klin. Wochenschr., 1893; ARONSON: Berl. klin. Wochenschr., 1893.

Spitze, dass in einem physiologisch inactiven Gemische von Antitoxin und Toxin beide Bestandtheile vollkommen frei bleiben und bei der Einführung in den Organismus auf dessen Zellen und Gewebe entgegengesetzte Wirkung ausüben. Jede von diesen Theorien wird freilich durch eine Anzahl Thatsachen unterstützt, aber keine von den beiden ist vorläufig im Stande, alle Beobachtungen, die die in Rede stehende Frage betreffen, genügend zu erklären.

Die interessante Mittheilung von WASSERMANN (1) über die Möglichkeit der Wiederherstellung der Activität von physiologisch neutralen Gemischen von Toxin und Antitoxin des grünen Eiters mittelst Erwärmen dieser Gemische auf 100°C, veranlasste mich bereits im Jahre 1896 analoge Versuche mit Diphtherietoxin und dem entsprechenden Antitoxin anzustellen. Ich beabsichtigte ursprünglich diese Versuche in einer grösseren Arbeit, welche dieses Thema ausführlicher behandeln sollte, mit zu veröffentlichen; doch entschloss ich mich dieselben schon vor der Fertigstellung der übrigen Versuche zu publicieren, und namentlich desshalb, weil die von mir gewonnenen Versuchsergebnisse einen schroffen Gegensatz bilden zu den Resultaten, welche GIOVANNI MARENGHI bei der Ausführung ähnlicher Versuche erhalten und im Centralblatt f. Bacteriologie und Parasitenkunde, 1897, Nr 18—19, veröffentlicht hat.

Bei der Beschreibung meiner Versuche habe ich auf die Art und Weise, wie dieselben ausgeführt wurden, besonderes Gewicht gelegt, weil eben hier, wie ich denke, der Grund zu suchen ist, warum ich und der genannte Autor zu so verschiedenen Schlüssen gelangt sind.

Meine erste Aufgabe war, die niedrigste Temperaturgrenze festzustellen, bei welcher das Diphtherietoxin sowohl seine giftigen Eigenschaften, als die Fähigkeit, antidiphtherisches Serum zu neutralisieren, verliert. Zum Zwecke der Erwärmung des Toxins, ebenso wie bei der Ausführung der zu beschreibenden Versuche bediente ich mich eines Wasserthermostaten von OSTWALD mit automatisch wirkendem Umrührer. Die Temperatur wurde controllirt mittelst eines Normalthermometers mit Theilstrichen von 1/10 Grad. Die Temperaturschwankungen im Thermostate betrugen 1/10 Grad. Das Toxin und alle anderen Flüssigkeiten wurden in Probirröhrchen erwärmt, deren unteres Ende mit einem Häkchen versehen war; das obere Ende wurde nach dem Einfüllen zugeschmolzen. An die Häkchen wurden mittelst Draht kleine Bleigewichte angehängt, durch die Schwere derselben wurden die Röhrchen

(1) Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten, 1896.

in der senkrechten Lage erhalten, indem sie zugleich ins Wasser eintauchten. Auf diese Weise wurde der Verlust an Flüssigkeit durch Verdunsten vorgebeugt.

In der Tabelle I sind einige Daten zur Illustration der Veränderungen des Toxins unter dem Einflusse der Temperatur angegeben.

## TABELLE I (1).

| TEMPERATUR | NNr DER VERSUCHSTHIERE (250 gr. schwere Meerschweinchen) im Jahre 1898 | Veränderungen der giftigen Eigenschaften des Toxins: Menge des eingespritzten erwärmten Toxins | Allgemeine und locale Reaction, hervorgerufen bei Meerschweinchen durch Einspritzungen des Toxins, welches erwärmt wurde innerhalb: 3 Stunden | 6 Stunden | 12 Stunden | 24 Stunden | Verhalten der neutralisirenden Kraft des Toxins — Toxin, erwärmt binnen 3, 6, 12 und 24 Stunden: Dauer des Erwärmens in Stunden | neutralisirt 1/10 Normaleinheiten Antitoxin | behält active Kraft in % | in Menge von 0,275 c.c. bewahrt seine Aktivität im Umfange von |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 55° | 129, 136, 137, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 347, 348, 349, 350, 351, 352. | 0,275 | I. k. | I. k. | o. I. | o. I. | 3 | 2 c.c. | 14,3 % | 0,0381 c.c. |
| | | 5 | +nach 3-4 T. | Nekrose | Nekrose | o. I. | 6 | 3,2 | 8,6 | 0,023 |
| | | 10 | — | — | Nekrose | o. I. | 12 | 4,5 | 6,2 | 0,0171 |
| | | | | | | | 24 | 0 | 0 | 0 |
| 60° | 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 343, 344, 345, 346, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385. | 0,275 | I. k. | I. s. k. | o. I. | o. I. | 3 | 3,5 | 7,8 | 0,021 |
| | | 5 | Nekrose | Nekrose | I. s. k. | o. I. | 6 | 5 | 5,3 | 0,0152 |
| | | 10 | — | — | I. k. | o. I. | 12 | 8,5 | 3,2 | 0,0088 |
| | | | | | | | 24 | 0 | 0 | 0 |
| 65° | 245, 246, 247, 248, 249, 250, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 339, 340, 341, 342. | 0,275 | o. I. | o. I. | o. I. | o. I. | 3 | 9,0 | 3,05 | 0,0034 |
| | | 5 | I. k. | o. I. | o. I. | o. I. | 6 | 1,026 | 0,097 | — |
| | | 10 | I. z. g. | I. s. k. | o. I. | o. I. | 12 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | | | 24 | 0 | 0 | 0 |
| 70° | 294, 295, 296, 321, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332. | 0,275 | — | — | — | — | 3 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5 | o. I. | — | — | — | 6 | 0 | 0 | 0 |
| | | 10 | o. I. | o. I. | o. I. | o. I. | 12 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | | | 24 | 0 | 0 | 0 |

Die in der Tabelle I angeführten Versuche beziehen sich auf das durch Filtriren sterilisirte Toxin, dessen Kraft auf Grund folgender Thatsachen, festgesetzt wurde : 1°) 0,03 c.c. ist die minimale letale Dosis für Meerschweinchen von 250 gr. Körpergewicht und 2°) 0,275 c.c. ist diejenige Menge Toxin, welche 1/10 Normaleinheiten Antitoxin neutralisiert. Aus der obigen Zusammenstellung ist leicht zu ersehen, dass die Veränderung sowohl der giftigen Eigenschaften des Toxins, als auch der ihm zukommenden Eigenschaft, das entsprechende Antitoxin zu neutralisieren, für jedes gegebene Toxin von zwei Factoren abhängt, nämlich von der Temperatur und der Dauer des Erwärmens. Es muss aber betont werden,

(1) Erklärung der Abkürzungen : o. I. = ohne Infiltrat; I. s. k. = Infiltrat sehr klein; I. k. = Infiltrat klein; I. z. g. = Infiltrat ziemlich gross; I. g. = Infiltrat gross; I. s. g. = Infiltrat sehr gross.

dass diese Zahlen nur auf das von mir für meine Versuche verwendete Toxin bezogen und nicht als der Ausdruck einer gesetzmässigen quantitativen Veränderung der Kraft des Diphtherietoxins überhaupt betrachtet werden können. Diese Veränderung steht in einem innigen Zusammenhange, ausser den erwähnten Momenten, auch noch mit dem Alkalinitätsgrad des Toxins, gegenseitigen quantitativen Beziehungen zwischen dem Toxin und den Toxoïden einerseits, und den verschiedenen Toxoiden untereinander andererseits, und endlich mit der Menge und Qualität des zugefügten Antisepticums. Alle diese Factoren sind von wesentlichem Einflusse auf den Grad der Veränderung des Toxins. Als Beweis möchte ich anführen, dass das Toxin, welches ich 1896 für meine Versuche verwendete, bereits nach 3 stündlichem Erwärmen auf 55°C seine Giftigkeit vollkommen verlor, während das Toxin, dessen ich mich 1898 bediente, wie aus der Tabelle I zu ersehen ist, in derselben Menge (5 c.c.) Meerschweinchen von demselben Gewicht eingespritzt, innerhalb 3—4 Tage den Tod der Thiere herbeiführte. Auch halte ich es für nothwendig, auf den Umstand aufmerksam zu machen, dass nicht alle Bestandtheile des Toxins der Einwirkung der Wärme im gleichen Maasse unterworfen sind, namentlich wird das eigentliche Toxin mehr abgeschwächt, als die Toxoide. Das ergiebt sich am deutlichsten aus dem Verhältniss der neutralisierenden Dosis des Toxins zu seiner letalen Dosis. Dieses Verhältniss ist für Toxin vor dem Erwärmen gleich 9,1 $\left(\frac{0{,}275}{0{,}03} = 9{,}1\right)$, nach dem Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 55°C gleich 0,4 $\left(\frac{2}{5} = 0{,}4\right)$; daraus folgt, dass das eigentliche Toxin beim Erwärmen 22,7 mal mehr abgeschwächt wird, als die Toxoide, die keine tödtlichen, sondern nur neutralisierende Eigenschaften besitzen. Auf die in der Tabelle I zusammengestellten Resultate meiner Versuche werde ich noch später zurückkommen; jetzt gehe ich zur Betrachtung der Frage der Veränderung der Kraft des Serums unter dem Einflusse der Temperatur über. Die Versuche, welche ich mit dem Serum ausgeführt habe, wurden unter denselben Bedingungen vorgenommen, wie beim Erwärmen des Toxins; ich benutzte zu diesem Zwecke den bereits erwähnten Thermostaten von OSTWALD und die zugeschmolzenen Probierröhrchen. Zahlreiche Versuche, welche ich behufs Aufklärung dieser Frage angestellt habe, berechtigen mich zu dem Schlusse, dass das Serum beim Erwärmen bei 50°—60° seine Kraft fast vollkommen bewahrt, bei 60°—65° abgeschwächt wird, und zwar in Folge einer partiellen Ausscheidung von Eiweissstoffen, welche Antitoxin aus der Lösung mit herunterreissen, bei

65°—70° endlich seine Kraft einbüsst, welche Erscheinung der Zerstörung des Antitoxins zuzuschreiben ist. Bei der Ausführung dieser Versuche muss besondere Aufmerksamkeit gerichtet werden auf die Ausfällung von Eiweissstoffen, welche Antitoxin aus der Lösung niederschlagen können. Diese Ausscheidung ist abhängig nicht nur von der Temperatur, sondern auch von der Alkalinität des Serums, gegenseitigen Beziehungen zwischen Globulin und Albumin, der Menge der darin enthaltenen Fermente und Salze und schliesslich von der Menge und Qualität des zugesetzten Antisepticums. Deshalb ist es rathsam, für derartige Versuche immer nur diejenige Menge Serum zu verwenden, welche gerade für die Feststellung der Kraft des Antitoxins bestimmt wird. Für meine Versuche benutzte ich hauptsächlich eine Lösung von Serum in der physiologischen Kochsalzlösung im Verhältniss 1 : 1000; die Menge des Serums entsprach 1/10 Einheit von BEHRING. Die nachstehenden Tabellen II und III sollen die Veränderung des Serums beim Erwärmen auf 55°C und 65°—70° veranschaulichen.

Im Jahre 1896 verfügte ich, wie schon erwähnt, über Toxin, welches bei 3-stündlichem Erwärmen auf 55°C sowohl seine giftigen Eigenschaften, als die Fähigheit, Infiltrat zu erzeugen, völlig verlor. Andererseits wurde durch die gleichzeitig angestellten Versuche I und II (Tabelle II) klargelegt, dass bei denselben Bedingungen, was Temperatur und Dauer des Erwärmens anbelangt, Antitoxin des Serums seine Kraft durchaus nicht verliert. Dieser Umstand berechtigt mich, die Temperatur von 55°C als solche zu betrachten, die für die Lösung der Frage über die gegenseitigen Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin beim Vermengen in vitro die geeigneteste sein dürfte. Sollten Toxin und Antitoxin bei ihrem Zusammenbringen keine chemischen Verbindungen eingehen, sondern in dem Gemische im freien Zustande bleiben, so müsste das physiologisch neutrale Gemenge beim Erwärmen auf 55°C activ werden, weil ja Toxin bei dieser Temperatur zerstört wird, Antitoxin dagegen unverändert bleibt. Wäre dem so, so müsste man zu dem erwärmten Gemische ein Quantum Toxin zusetzen, welches dem ursprünglichen gleich wäre, um wiederum ein neutrales Gemisch zu erhalten. Es hat sich aber herausgestellt, dass im erwärmten Gemische kein freies Antitoxin enthalten ist; nach einem Zusatz von Toxin wurde das Gemisch giftig. Diesbezügliche Versuche sind in der Tabelle IV zusammengestellt.

Bei der Erklärung dieser Thatsache sind drei Möglichkeiten in Betracht zu ziehen. 1° Durch die Anwesenheit von dem Toxin fremden Bestandtheilen, wie Alkalien, verschiedenen Salzen, Pepton, Extractivstoffen u. a. m. wird freies Antitoxin beim Erwärmen des Gemisches von

## TABELLE II (1).

| | Serum vor dem Erwärmen | | | | | | | Serum nach dem Erwärmen | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Versuchsnummer | Gewicht des Meerschweinchens vor der Einspritzung | Menge des eingespritzten Serums in c.c. | Menge des eingespritzten Toxins in c.c. | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Locale Reaction beim Meerschweinchen | Laufende Nummer des Meerschweinchens | Jahr des Versuches | Laufende Nummer des Meerschweinchens | Gewicht des Meerschweinchens vor der Einspritzung | Menge des eingespritzten Serums in c.c. | Menge des eingespritzten Toxins in c.c. | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Locale Reaction beim Meerschweinchen | Versuchsanordnung |
| I | 510 | 0,0004 | 0,3 | 488 | o. I. | 1293 | 1896 | 1305 | 355 | 0,0004 | 0,3 | 360 | o. I. | Reines innerhalb 6 Stunden auf 55°C erwärmtes Serum. |
| | 475 | 0,00035 | 0,3 | 465 | o. I. S = 280 E. | 1294 | | 1306 | 325 | 0,00035 | 0,3 | 335 | o. I. S = 280 E. | |
| | 495 | 0,0003 | 0,3 | 492 | I. k. | 1295 | | 1307 | 370 | 0,0003 | 0,3 | 330 | I. k. | |
| | 480 | 0,00025 | 0,3 | 436 | I. z. g. | 1296 | | 1308 | 350 | 0,00025 | 0,3 | 322 | I. z. g. | |
| II | 470 | 0,0005 | 0,3 | 462 | o. I. | 1261 | 1896 | 1273 | 415 | 0,0005 | 0,3 | 410 | o. I. | Carbolisirtes innerhalb 6 Stunden auf 55°C erwärmtes Serum. |
| | 555 | 0,00045 | 0,3 | 540 | o. I. | 1262 | | 1274 | 405 | 0,00045 | 0,3 | 410 | o. I. | |
| | 470 | 0,0004 | 0,3 | 472 | o. I. S = 250 E. | 1263 | | 1275 | 485 | 0,0004 | 0,3 | 480 | o. I. S = 250 E. | |
| | 475 | 0,00035 | 0,3 | 470 | I. k. | 1264 | | 1276 | 400 | 0,00035 | 0,3 | 355 | I. s. k. | |
| III | 288 | 0,0003571 | 0,275 | 308 | o. I. | 713 | 1897 | 718 | 353 | 0,0003571 | 0,275 | 362 | o. I. | Reines, 1000-fach verdünntes und binnen 3 Stunden auf 55°C erwärmtes Serum. |
| | 322 | 0,0003448 | 0,275 | 342 | o. I. S = 290 E. | 714 | | 719 | 390 | 0,0003448 | 0,275 | 418 | o. I. S = 290 E. | |
| | 323 | 0,0003333 | 0,275 | 308 | I. z. g. | 715 | | 720 | 360 | 0,0003333 | 0,275 | 392 | I. k. | |
| | 307 | 0,0003225 | 0,275 | 300 | I. z. g. | 716 | | | | | | | | |
| | 278 | 0,0003125 | 0,275 | 245 | I. g. | 717 | | | | | | | | |
| IV | 300 | 0,0004 | 0,265 | 310 | o. I. | 1167 | 1897 | 1187 | 360 | 0,0004 | 0,260 | 356 | o. I. | Carbolisirtes, 1000-fach verdünntes und binnen 3 Stunden auf 55°C erwärmtes Serum. |
| | 340 | 0,0004 | 0,270 | 338 | o. I. | 1168 | | 1188 | 292 | 0,0004 | 0,265 | 308 | o. I. | |
| | 302 | 0,0004 | 0,275 | 300 | o. I. N. g. | 1169 | | 1189 | 282 | 0,0004 | 0,270 | 278 | o. I. N. g. | |
| | 290 | 0,0004 | 0,280 | 296 | I. z. g. | 1170 | | 1190 | 265 | 0,0004 | 0,275 | 265 | o. I. | |
| | 285 | 0,0004 | 0,285 | 265 | I. z. g. | 1171 | | | | | | | | |
| V | 402 | 0,0004 | 0,275 | 377 | o. I. | 360 | 1898 | 375 | 375 | 0,0004 | 0,275 | 355 | o. I. | Carbolisirtes, 1000-fach verdünntes u. auf 55°C 24 Stunden erwärmtes Serum. |
| | 398 | 0,0004 | 0,280 | 285 | o. I. N. g. | 361 | | 376 | 332 | 0,0004 | 0,280 | 322 | o. I. N. g. | |
| | 455 | 0,0004 | 0,285 | 415 | I. s. k. | 362 | | 377 | 322 | 0,0004 | 0,285 | 320 | o. I. | |

(1) In diesen wie auch allen übrigen Versuchen wurde das Serum in der Lösung 1 : 1000 erwärmt, ausserdem für jede einzelne Einspritzung in einem zugeschmolzenen Röhrchen in der Menge, welche in der Tabelle angegeben ist, besonders erwärmt. In der gleichen Weise wurde jedes von den Gemischen behandelt.

## TABELLE III.

| TEMPERATUR | Nr des Meerschweinchens im Jahre 1898 | Gewicht des Meerschweinchens vor der Einspritzung | Menge des eingespritzten Serums | Menge des eingespritzten Toxins | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Locale und allgemeine Reaction beim Meerschweinchen | Menge des das erwärmte Serum neutralisirenden Toxins | Procentgehalt des nach dem Erwärmen im Serum zurückgebliebenen Antitoxins |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *a)* Serum vor dem Erwärmen. | | | | | | | | |
| | 360 | 402 | 0,0004 | 0,275 | 377 | o. I. | | |
| | 361 | 398 | 0,0004 | 0,280 | 385 | o. I. | 0,28 | 100 % |
| | 362 | 455 | 0,0004 | 0,285 | 415 | I. s. k. N. g. | | |
| *b)* Serum, 1000-fach verdünnt, nach dem Erwärmen innerhalb 3 Stunden. | | | | | | | | |
| | 336 | 355 | 0,0004 | 0,2 | 390 | o. I. | | |
| | 337 | 405 | 0,0004 | 0,22 | 422 | o. I. | | |
| 65° | 390 | 382 | 0,0004 | 0,25 | 390 | o. I. | | |
| | 391 | 362 | 0,0004 | 0,27 | 360 | o. I. | | |
| | 412 | 425 | 0,0004 | 0,275 | 418 | I. s. k. N. g. | 0,27 | 96,4 % |
| | 413 | 395 | 0,0004 | 0,23 | 380 | I. k. | | |
| | 432 | 405 | 0,0004 | 0,23 | 415 | I. z. g. | | |
| | 431 | 370 | 0,0004 | 0,22 | 387 | I. s. k. N. g. | 0,215 | 76,8 % |
| 66° | 430 | 340 | 0,0004 | 0,21 | 338 | o. I. | | |
| | 418 | 442 | 0,0004 | 0,2 | 448 | o. I. | | |
| | 418 | 440 | 0,0004 | 0,175 | 452 | o. I. | | |
| | 416 | 385 | 0,0004 | 0,15 | 375 | o. I. | | |
| | 419 | 380 | 0,0004 | 0,2 | 390 | I. z. g. | | |
| | 420 | 412 | 0,0004 | 0,175 | 430 | I. z. g. | | |
| 67° | 433 | 267 | 0,0004 | 0,15 | 272 | I. s. k. N. g. | 0,145 | 51,8 % |
| | 438 | 254 | 0,0004 | 0,125 | 262 | o. I. | | |
| | 437 | 280 | 0,0004 | 0,11 | 295 | o. I. | | |
| | 392 | 243 | 0,0004 | 0,075 | 265 | o. I. | | |
| | 393 | 250 | 0,0004 | 0,115 | 252 | o. I. | | |
| 68° | 394 | 275 | 0,0004 | 0,125 | 295 | o. I. | | |
| | 395 | 245 | 0,0004 | 0,135 | 262 | I. s. k. N. g. | 0,130 | 46,4 % |
| | 396 | 270 | 0,0004 | 0,55 | 275 | I. z. g. | | |
| | 405 | 330 | 0,0004 | 0,075 | 318 | o. I. | | |
| | 406 | 320 | 0,0004 | 0,11 | 335 | o. I. | | |
| 69° | 407 | 285 | 0,0004 | 0,125 | 330 | I. s. k. N. g. | 0,120 | 42,8 % |
| | 428 | 360 | 0,0004 | 0,15 | 354 | I. z. g. | | |
| | 429 | 348 | 0,0004 | 0,175 | 330 | I. g. | | |
| | 334 | 405 | 0,0004 | 0,1 | 382 | I. z. g. | | |
| | 335 | 330 | 0,0004 | 0,09 | 420 | I. z. g. | | |
| 70° | 336 | 450 | 0,0004 | 0,085 | 455 | I. k. | | |
| | 387 | 420 | 0,0004 | 0,075 | 432 | I. s. k. N. g. | 0,07 | 25 % |
| | 388 | 425 | 0,0004 | 0,065 | 420 | o. I. | | |

Toxin und Serum zerstört, und zwar unabhängig von Toxin, welches bei der Temperatur von 55°C selbst zerstört wird. 2° Toxin und Antitoxin sind in dem Gemisch an einander gebunden, indem sie eine Verbindung bilden, welche beständiger ist und bei 55°C nicht dissociirt, sondern bei einer höheren Temperatur, z. B. bei 100°C, wie aus den Versuchen von WASSERMANN zu schliessen ist. 3° Antitoxin bedingt beim Vermengen mit Toxin eine Veränderung der moleculären Structur des letzteren, wobei

TABELLE IV.

| Nr des Versuches | Nr des Meerschweinchens im Jahre 1890 | Gewicht des Meerschweinchens vor der Einspritzung | Menge des eingespritzten Serums | Menge des eingespritzten Toxins | Menge des erwärmten und eingespritzten Toxins | Menge des erwärmten und eingespritzten Serums | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Allgemeine und locale Reaction beim Meerschweinchen | Schlussfolgerung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *a)* Bestimmung der Kraft des Serums und der neutralisierenden Fähigkeit des Toxins. | | | | | | | | |
| | 1294 | 475 | 0,0004 | 0,3 | | | 488 | o. I. | Kraft = 280 Einheiten. 0,3 Toxin neutralisiren 0,00035 c.c. Serum. |
| | 1294 | 475 | 0,00035 | 0,3 | | | 465 | o. I. | |
| | 1295 | 495 | 0,0003 | 0,3 | | | 492 | I. k. | |
| | 1296 | 480 | 0,00025 | 0,3 | | | 436 | I. z. g. | |
| | *b)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Toxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 55°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | |
| I | 1297 | 425 | | | 0,3 | 0,0004 | 430 | o. I. | Das Gemisch enthält kein freies Toxin, weil sogar NNr 1299 und 1300 ohne Infiltrat sind. |
| | 1298 | 425 | | | 0,3 | 0,00035 | 415 | o. I. | |
| | 1299 | 375 | | | 0,3 | 0,0003 | 365 | o. I. | |
| | 1300 | 375 | | | 0,3 | 0,00025 | 362 | o. I. | |
| | *c)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 55°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | |
| | 1301 | 450 | | 0,3 | 0,3 | 0,0004 | 350 | + am 5 T. | Das Gemisch enthält kein freies Antitoxin, weil alle Meerschweinchen zu Grunde gingen. |
| | 1302 | 430 | | 0,3 | 0,3 | 0,00035 | 350 | + am 5 T. | |
| | 1303 | 470 | | 0,3 | 0,3 | 0,0003 | 300 | + am 4 T. | |
| | 1304 | 340 | | 0,3 | 0,3 | 0,00025 | 270 | + am 4 T. | |
| | *a)* Bestimmung der Kraft des Serums und der neutralisierenden Fähigkeit des Toxins. | | | | | | | | |
| | 1261 | 470 | 0,0005 | 0,3 | | | 462 | o. I. | Kraft = 240 Einheiten. 0,3 Toxin neutralisiren 0,0004 c.c. Serum. |
| | 1262 | 555 | 0,00045 | 0,3 | | | 540 | o. I. | |
| | 1263 | 470 | 0,0004 | 0,3 | | | 472 | o. I. | |
| | 1264 | 475 | 0,00035 | 0,3 | | | 470 | I. k. | |
| | *b)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Toxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 55°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | |
| | 1265 | 460 | | | 0,3 | 0,0005 | 462 | o. I. | Das Gemisch enthält kein freies Toxin, weil sogar Nr 1268 kein Infiltrat aufweist. |
| II | 1266 | 475 | | | 0,3 | 0,00045 | 458 | o. I. | |
| | 1267 | 445 | | | 0,3 | 0,0004 | 448 | o. I. | |
| | 1268 | 445 | | | 0,3 | 0,00035 | 436 | o. I. | |
| | *c)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 55°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | |
| | 1269 | 405 | | 0,3 | 0,3 | 0,0005 | 315 | + am 4 T. | Das Gemisch enthält kein freies Antitoxin, weil alle Meerschweinchen zu Grunde gingen. |
| | 1270 | 440 | | 0,3 | 0,3 | 0,00045 | 375 | + am 4 T. | |
| | 1271 | 460 | | 0,3 | 0,3 | 0,0004 | 400 | + am 4 T. | |
| | 1272 | 480 | | 0,3 | 0,3 | 0,00035 | 335 | + am 4 T. | |

seine Giftigkeit verloren geht, und wird selbst in ähnlicher Weise umgestaltet; bei entsprechender Temperatur findet eine Regeneration bald des einen, bald des anderen statt (in den Versuchen von WASSERMANN die Regeneration des Toxins). Zur Prüfung der ersten Möglichkeit wurden zwei Methoden herangezogen. 1° Nachdem ich die Menge des zur Neutralisation eines gewissen Quantums Toxins erforderlichen Serums bestimmt hatte, bereitete ich ein Gemisch aus Toxin und doppelter Menge Antitoxin, als zur Neutralisation nothwendig war. Das Gemisch wurde 3 Stunden auf 55°C erwärmt, worauf ich so viel Toxin zusetzte, als in dem Gemische

## TABELLE V.

| Nr und Datum des Versuches | Nr des Meerschweinchens | Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection | Menge des eingespritzten Serums | Menge des eingespritzten Toxins | Menge im Gemische des erwärmten und eingespritzten: Toxins | Toxin, erwärmt binnen 3 Stunden auf 55°C | Serums | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Allgemeine und locale Reaction des Meerschweinchens | Schlussfolgerung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *a)* Bestimmung des 1/10 Normaleinheiten Antitoxin neutralisirenden Toxins. | | | | | | | | | |
| | 1182 | 305 | 0,0004 | 0,255 | | | | 287 | o. I. | 0,265 c.c. Toxin neutralisiren 1/10 Normaleinheiten Antitoxin. |
| | 1181 | 390 | 0,0004 | 0,26 | | | | 405 | o. I. | |
| | 1180 | 400 | 0,0004 | 0,265 | | | | 397 | o. I. | |
| | 1179 | 390 | 0,0004 | 0,27 | | | | 395 | I. s. k. | |
| | *b)* Bestimmung des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 55° erwärmten Gemische. | | | | | | | | | |
| | 1196 | 250 | | 0,255 | 0,255 | | 0,0004 | 242 | + am 2 T. | Im erwärmten Gemische ist kein freies Antitoxin enthalten, weil alle Meerschweinchen zu Grunde gingen. |
| | 1195 | 270 | | 0,26 | 0,26 | | 0,0004 | 247 | + am 3 T. | |
| | 1194 | 265 | | 0,265 | 0,265 | | 0,0004 | 245 | + am 2 T. | |
| I. | 1193 | 310 | | 0,27 | 0,27 | | 0,0004 | 270 | + am 2 T. | |
| | *c)* Bestimmung des Einflusses von fremden Bestandtheilen des Toxins auf die Zerstörung des Antitoxins des Serums. | | | | | | | | | |
| 1897 | 1200 | 260 | | 0,255 | 0,255 | | 0,0008 | 262 | I. z. g. | Ueberschüssiges Antitoxin wird nicht zerstört, sondern nur etwas abgeschwächt. |
| | 1199 | 282 | | 0,26 | 0,26 | | 0,0008 | 275 | I. z. g. | |
| | 1198 | 245 | | 0,265 | 0,265 | | 0,0008 | 242 | I. z. g. | |
| | 1197 | 255 | | 0,27 | 0,27 | | 0,0008 | 233 | I. z. g. | |
| | *d)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 55° C. | | | | | | | | | |
| | 1172 | 272 | | 0,255 | | 0,255 | 0,0004 | 252 | I. s. k. | Antitoxin wird nicht zerstört, sondern nur etwas abgeschwächt. |
| | 1173 | 312 | | 0,26 | | 0,26 | 0,0004 | 315 | I. s. k. | |
| | 1174 | 287 | | 0,265 | | 0,265 | 0,0004 | 295 | I. s. k. | |
| | 1175 | 285 | | 0,27 | | 0,27 | 0,0004 | 290 | I. s. k. | |
| | *a)* Bestimmung des 1/10 Normaleinheiten Antitoxin neutralisirenden Toxins. | | | | | | | | | |
| | 1 | 532 | 0,0004 | 0,245 | | | | 537 | o. I. | 0,255 c.c. Toxin neutralisiren 1/10 Normaleinheiten Antitoxin. |
| | 2 | 450 | 0,0004 | 0,25 | | | | 430 | o. I. | |
| | 3 | 398 | 0,0004 | 0,255 | | | | 365 | o. I. | |
| | 4 | 462 | 0,0004 | 0,26 | | | | 445 | I. s. k. | |
| | 5 | 400 | 0,0004 | 0,265 | | | | 385 | I. k. | |
| | *b)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 55° C. | | | | | | | | | |
| | 6 | 335 | | 0,245 | 0,245 | | 0,0008 | 299 | I. z. g. | Ueberschüssiges Antitoxin wird nicht zerstört, sondern nur etwas abgeschwächt. |
| | 7 | 292 | | 0,25 | 0,25 | | 0,0008 | 268 | I. z. g. | |
| | 8 | 362 | | 0,255 | 0,255 | | 0,0008 | 315 | I. g. | |
| | 9 | 260 | | 0,26 | 0,26 | | 0,0008 | 382 | I. g. | |
| | 10 | 255 | | 0,265 | 0,265 | | 0,0008 | 245 | + am 3 T. | |
| | *c)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 55° C. | | | | | | | | | |
| II. | 11 | 425 | | 0,245 | | 0,245 | 0,0008 | 415 | o. I. | Ueberschüssiges Antitoxin wird nicht zerstört. |
| | 12 | 375 | | 0,25 | | 0,25 | 0,0008 | 377 | o. I. | |
| 1898 | 13 | 335 | | 0,255 | | 0,255 | 0,0008 | 515 | o. I. | |
| | 14 | 348 | | 0,26 | | 0,26 | 0,0008 | 325 | o. I. | |
| | 15 | 283 | | 0,265 | | 0,265 | 0,0008 | 268 | o. I. | |
| | *d)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 55° C. | | | | | | | | | |
| | 16 | 522 | | $(0,245)^2 = 0,49$ | | 0,245 | 0,0008 | 467 | I. z. g. | Ueberschüssiges Antitoxin wird nicht zerstört, sondern nur etwas abgeschwächt. |
| | 17 | 428 | | $(0,25)^2 = 0,5$ | | 0,25 | 0,0008 | 410 | I. z. g. | |
| | 18 | 380 | | $(0,255)^2 = 0,51$ | | 0,255 | 0,0008 | 357 | I. z. g. | |
| | 19 | 522 | | $(0,26)^2 = 0,52$ | | 0,26 | 0,0008 | 475 | I. z. g. | |
| | 20 | 452 | | $(0,265)^2 = 0,53$ | | 0,265 | 0,0008 | 425 | I. z. g. | |
| | *e)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 55° C. | | | | | | | | | |
| | 21 | 392 | | 0,245 | | 0,245 | 0,0004 | 360 | I. s. k. | Antitoxin wird nicht zerstört, dasselbe wird nur etwas abgeschwächt. |
| | 22 | 375 | | 0,25 | | 0,25 | 0,0004 | 340 | I. s. k. | |
| | 23 | 348 | | 0,255 | | 0,255 | 0,0004 | 348 | I. k. | |
| | 24 | 352 | | 0,26 | | 0,26 | 0,0004 | 352 | I. k. | |
| | 25 | 225 | | 0,265 | | 0,265 | 0,0004 | 215 | I. k. | |

## TABELLE VI.

| Nº und Datum des Versuches | Nº des Meerschweinchens | Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection | Menge des eingespritzten Serums | Menge des eingespritzten Toxins | Menge im Gemische des erwärmten und eingespritzten: Toxins | Toxin, erwärmt binnen 3 Stunden auf 60°C | Serums | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Allgemeine und locale Reaction des Meerschweinchens | Schlussfolgerung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *a)* Bestimmung der Kraft des Serums und der neutralisirenden Fähigheit des Toxins. | | | | | | | | | | |
| | 1293 | 475 | 0,0004 | 0,3 | | | | 488 | o. I. | Kraft = 280 E. 0,3 c.c Toxin neutralisiren 0,00035 c.c. Serum. |
| | 1294 | 475 | 0,00035 | 0,3 | | | | 465 | o. I. | |
| | 1295 | 495 | 0,0003 | 0,3 | | | | 492 | I. k. | |
| | 1296 | 480 | 0,00025 | 0,3 | | | | 436 | I. z. g. | |
| *b)* Bestimmung der Veränderung des Antitoxins beim Erwärmen binnen 3 Stunden auf 60°C. | | | | | | | | | | |
| I | 1309 | 405 | | 0,3 | | | 0,0004 | 418 | o. I. | Antitoxin hat beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden bei 60°C sehr wenig von seiner Kraft eingebüsst. |
| 1896 | 1310 | 400 | | 0,3 | | | 0,00035 | 415 | I. s. k. | |
| | 1211 | 350 | | 0,3 | | | 0,0003 | 358 | I. k. | |
| | 1312 | 325 | | 0,3 | | | 0,00025 | 255 | I. z. g. | |
| *c)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 60°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | | | |
| | 1313 | 320 | | 0,3 | 0,3 | | 0,0004 | 270 | + am 5 T. | Erwärmtes Gemisch enthält kein freies Antitoxin. |
| | 1314 | 310 | | 0,3 | 0,3 | | 0,00035 | 270 | + am 3 T. | |
| | 1315 | 300 | | 0,3 | 0,3 | | 0,0003 | 225 | + am 5 T. | |
| | 1316 | 270 | | 0,3 | 0,3 | | 0,00025 | 205 | + am 5 T. | |
| *a)* Bestimmung der neutralisirenden Kraft des Toxins. | | | | | | | | | | |
| | 153 | 468 | 0,0004 | 0,265 | | | | 460 | o. I. | 0,270 c.c. ist die minimale Dosis des Toxins, welche 1 10 Normaleinheiten Antitoxin neutralisirt. |
| | 152 | 545 | 0,0004 | 0,27 | | | | 558 | o. I. | |
| | 151 | 610 | 0.0004 | 0,275 | | | | 627 | I. s. k. | |
| *b)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem binnen 3 Stunden auf 60°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | | | |
| | 156 | 292 | | 0,265 | 0,265 | | 0,0004 | 280 | + am 3 T. | Erwärmtes Gemisch enthält kein freies Antitoxin. |
| | 155 | 295 | | 0,27 | 0,27 | | 0,0004 | 280 | + am 2 T. | |
| II | 154 | 377 | | 0,275 | 0.275 | | 0.0004 | 367 | + am 2 T. | |
| *c)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 60°C. | | | | | | | | | | |
| 1898 | 159 | 335 | | 0,265 | | 0,265 | 0,0004 | 320 | I. k. | Antitoxin wird nicht zerstört, sondern nur etwas abgeschwächt. |
| | 158 | 340 | | 0,27 | | 0,27 | 0,0004 | 428 | I. k. | |
| | 157 | 457 | | 0,275 | | 0,275 | 0.0004 | 425 | I. z. g. | |
| *d)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 60°C. | | | | | | | | | | |
| | 162 | 332 | 0,0004 | 0.265 | | 0,265 | | 322 | I. s. k. | Erwärmtes Toxin besitzt sehr schwache neutralisirende Kraft. |
| | 161 | 372 | 0,0004 | 0,27 | | 0.275 | | 305 | I. s. k. | |
| | 160 | 350 | 0,0004 | 0,275 | | 0,27 | | 360 | I. s. k. | |

ursprünglich vorhanden war. Damit wurden also die Bedingungen geschaffen zur Zerstörung des überschüssigen Antitoxins durch die fremden Bestandtheile des Toxins, falls ein solcher Process überhaupt stattfinden kann. 2° Das zweite Verfahren bestand in Erwärmen des Serums mit dem Toxin, welches durch vorausgehendes Erwärmen bei derselben Temperatur bereits zerstört war, auf 55°C. Auch hier waren die Bedingungen derart gestaltet, dass die Zerstörung des Antitoxins leicht vor sich gehen konnte. Die Tabelle V enthält die Resultate der dahingehenden Versuche.

Aus der obigen Zusammenstellung geht hervor, 1° dass beim Erwärmen

## TABELLE VII.

| N° und Datum des Versuches | N° des Meerschweinchens | Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection | Menge des eingespritzten Serums | Menge des eingespritzten Toxins | Menge im Gemische des erwärmten und eingespritzten: Toxins | Toxin erwärmt binnen 3 Stunden auf 65°C | Serums | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Allgemeine und locale Reaction des Meerschweinchens | Schlussfolgerung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *a)* Bestimmung der Kraft des Serums und der neutralisirenden Fähigkeit des Toxins. | | | | | | | | | |
| | 1293 | 475 | 0,0004 | 0,3 | | | | 488 | o. I. | Kraft = 280 E. 0,3 c.c. Toxin neutralisiren 0,00035 c.c. Serum. |
| | 1294 | 475 | 0,00035 | 0,3 | | | | 465 | o. I. | |
| | 1295 | 495 | 0,0003 | 0,3 | | | | 492 | I. k. | |
| | 1296 | 480 | 0,00025 | 0,3 | | | | 436 | I. z. g. | |
| | *b)* Bestimmung der Veränderung des Antitoxins beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 65°C. | | | | | | | | | |
| I | 1317 | 600 | | 0,3 | | | 0,0004 | 572 | I. k. | Antitoxin hat von seiner Kraft wenig verloren. |
| | 1318 | 505 | | 0,3 | | | 0,00035 | 452 | I. z. g. | |
| 896 | 1319 | 540 | | 0,3 | | | 0,0003 | 480 | I. z. g. | |
| | 1320 | 480 | | 0,3 | | | 0,00025 | 396 | + am 5 T. | |
| | *c)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 65°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | | |
| | 1321 | 440 | | 0,3 | 0,3 | | 0,0004 | 340 | + am 6 T. | Im erwärmten Gemische ist kein freies Antitoxin enthalten. |
| | 1322 | 420 | | 0,3 | 0,3 | | 0,00035 | 335 | + am 4 T. | |
| | 1323 | 420 | | 0,3 | 0,3 | | 0,0003 | 330 | + am 4 T. | |
| | 1324 | 370 | | 0,3 | 0,3 | | 0,00025 | 300 | + am 5 T. | |
| | *a)* Bestimmung der neutralisirenden Kraft des Toxins. | | | | | | | | | |
| | 184 | 375 | 0,0004 | 0,27 | | | | 375 | o. I. | 0,275 c.c. ist die maximale Dosis Toxin, welche 1/10 Normaleinheiten Antitoxin neutralisirt. |
| | 183 | 405 | 0,0004 | 0,275 | | | | 300 | o. I. | |
| | 182 | 480 | 0,0004 | 0,28 | | | | 480 | I. s. k. | |
| | *b)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 65°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | | |
| | 187 | 285 | | 0,27 | 0,27 | | 0,0004 | 262 | + am 2 T. | Im erwärmten Gemische ist kein freies Antitoxin enthalten. |
| | 186 | 280 | | 0,275 | 0,275 | | 0,0004 | 240 | + am 3 T. | |
| II | 185 | 362 | | 0,28 | 0,28 | | 0,0004 | 332 | + am 3 T. | |
| 898 | *c)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 65°C. | | | | | | | | | |
| | 190 | 345 | | 0,27 | | 0,27 | 0,0004 | 325 | I. z. g. | Antitoxin wird nicht zerstört, sondern nur ein wenig abgeschwächt. |
| | 189 | 380 | | 0,275 | | 0,275 | 0,0004 | 370 | I. g. | |
| | 188 | 287 | | 0,28 | | 0,28 | 0,0004 | 215 | I. g. | |
| | *d)* Bestimmung der neutralisirenden Fähigkeit des Antitoxins beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 65°C. | | | | | | | | | |
| | 193 | 206 | | 0,27 | | | 0,0004 | 217 | I. k. | Antitoxin hat von seiner Kraft wenig eingebusst. |
| | 192 | 248 | | 0,275 | | | 0,0004 | 252 | I. z. g. | |
| | 191 | 262 | | 0,28 | | | 0,0004 | 280 | I. z. g. | |

des Toxins auf 55°C mit doppelter Menge Serum, als zu seiner Neutralisation nothwendig ist, die fremden Bestandtheile des Toxins die Kraft des überschüssigen Antitoxins nicht vernichten (c I und b II), und 2° dass diese fremden Stoffe, in erwärmtem Toxin (55°C) enthalten, beim Erwärmen sammt dem Toxin auf 55°C nicht im Stande sind, Antitoxin vollständig zu zerstören (c und d II), und endlich 3° dass die Abwesenheit des Antitoxins in den Versuchen c I und c II Tab. IV und b I Tab. V auf die bindende oder zerstörende Wirkung des Toxins selbst zurückzuführen ist. Die Versuche c I, b, c und d II Tab. V ergaben die Anwesenheit des Antitoxins; die

# TABELLE VIII.

| N° und Datum des Versuches | N° des Meerschweinchens | Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection | Menge des eingespritzten Serums | Menge des eingespritzten Toxins | Menge im Gemische des erwärmten und eingespritzten: Toxins | Toxin, erwärmt binnen 3 Stunden auf 70°C | Serums | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Allgemeine und locale Reaction des Meerschweinchens | Schlussfolgerung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *a)* Bestimmung der Kraft des Serums und der neutralisirenden Fähigkeit des Toxins. | | | | | | | | | |
| | 1293 | 475 | 0,0004 | 0,3 | | | | 488 | o. I. | Kraft = 280 Einh. 0,3 c.c. Toxin neutralisiren 0,000[illegible] c.c. Serum. |
| | 1294 | 475 | 0,00035 | 0,3 | | | | 465 | o. I. | |
| | 1295 | 495 | 0,0003 | 0,3 | | | | 492 | I. k. | |
| | 1296 | 486 | 0,00025 | 0,3 | | | | 436 | I. z. g. | |
| | *b)* Bestimmung der Veränderung des Antitoxins beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 70°C. | | | | | | | | | |
| I | 1329 | 550 | | 0,3 | | | 0,0004 | 488 | † am 10 T. | Antitoxin hat beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 70°C sehr viel von seiner Kraft verloren. |
| | 1330 | 490 | | 0,3 | | | 0,00035 | 488 | Nekrose | |
| 1896 | 1331 | 475 | | 0,3 | | | 0,0003 | 410 | † am 3 T. | |
| | 1332 | 435 | | 0,3 | | | 0,00035 | 398 | † am 6 T. | |
| | *c)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 70°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | | |
| | 1333 | 430 | | 0,3 | 0,3 | | 0,0004 | 330 | † am 5 T. | Im erwärmten Gemische ist kein freies Antitoxin enthalten. |
| | 1334 | 405 | | 0,3 | 0,3 | | 0,00035 | 340 | † am 4 T. | |
| | 1335 | 380 | | 0,3 | 0,3 | | 0,0003 | 307 | † am 4 T. | |
| | 1336 | 395 | | 0,3 | 0,3 | | 0,00025 | 342 | † am 3 T. | |
| | *a)* Bestimmung der neutralisirenden Fähigkeit des Toxins. | | | | | | | | | |
| | 69 | 222 | 0,0004 | 0,255 | | | | 223 | o. I. | 0,265 c.c. ist die maximale Dosis des Toxins, welche 1/10 Normaleinheiten Antitoxin neutralisirt. |
| | 70 | 223 | 0,0004 | 0,26 | | | | 210 | o. I. | |
| | 71 | 217 | 0,0004 | 0,265 | | | | 218 | o. I. | |
| | 72 | 225 | 0,0004 | 0,27 | | | | 225 | I. s. k. | |
| | 73 | 225 | 0,0004 | 0,275 | | | | 208 | I. k. | |
| | *b)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 70°C. | | | | | | | | | |
| | 74 | 232 | | 0,255 | 0,255 | | 0,0008 | 197 | † am 3 T. | Im erwärmten Gemische ist kein freies Antitoxin enthalten. |
| | 75 | 240 | | 0,26 | 0,26 | | 0,0008 | 212 | † am 3 T. | |
| | 76 | 250 | | 0,265 | 0,265 | | 0,0008 | 220 | † am 3 T. | |
| | 77 | 255 | | 0,27 | 0,27 | | 0,0008 | 220 | † am 3 T. | |
| | 78 | 265 | | 0,275 | 0,275 | | 0,0008 | 287 | † am 3 T. | |
| | *c)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 70°C. | | | | | | | | | |
| II | 79 | 262 | | 0,255 | | 0,255 | 0,0004 | 265 | I. k. | Toxin, auf 70°C erwärmt, behält die Fähigkeit Antitoxin zu binden und es an das nicht erwärmte Toxin abzugeben. |
| 1898 | 80 | 300 | | 0,26 | | 0,26 | 0,0004 | 275 | I. z. g. | |
| | 81 | 317 | | 0,265 | | 0,265 | 0,0004 | 312 | I. z. g. | |
| | 82 | 335 | | 0,27 | | 0,27 | 0,0004 | 302 | I. z. g. | |
| | 83 | 345 | | 0,755 | | 0,275 | 0,0004 | 295 | I. z. g. | |
| | *d)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 70°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | | |
| | 84 | 343 | | 0,255 | 0,255 | | 0,0004 | 315 | † am 3 T. | Im erwärmten Gemische ist kein freies Antitoxin enthalten. |
| | 85 | 385 | | 0,26 | 0,26 | | 0,0004 | 348 | † am 2 T. | |
| | 86 | 375 | | 0,265 | 0,265 | | 0,0004 | 300 | † am 2 T. | |
| | 87 | 348 | | 0,27 | 0,27 | | 0,0004 | 318 | † am 2 T. | |
| | 88 | 385 | | 0,275 | 0,275 | | 0,0004 | 373 | † am 2 T. | |
| | *e)* Bestimmung der neutralisirenden Fähigkeit des innerhalb 3 Stunden auf 70°C erwärmten Antitoxin. | | | | | | | | | |
| | 89 | 275 | | 0,255 | | | 0,0004 | 200 | † am 2 T. | Beim Erwärmen wird das Serum abgeschwächt. |
| | 90 | 262 | | 0,26 | | | 0,0004 | 250 | † am 2 T. | |
| | 91 | 262 | | 0,265 | | | 0,0004 | 218 | † am 2 T. | |
| | 92 | 302 | | 0,27 | | | 0,0004 | 277 | † am 2 T. | |
| | 93 | 267 | | 0,275 | | | 0,0004 | 255 | † am 2 T. | |

Menge desselben war jedoch deutlich vermindert. Diese Verminderung wäre vielleicht auf folgende zwei Umstände zu beziehen. 1° Es ist möglich, dass die fremden Stoffe des Toxins beim Erwärmen die Zerstörung des Antitoxins in einem geringen Grade doch beeinflussen. 2° Es könnte angenommen werden, dass in dem Toxin, ausser den bisher bekannten Toxoiden, auch solche enthalten sind, welche die Eigenschaft besitzen, sich mit dem Antitoxin nur bei höherer Temperatur zu verbinden. Indem ich die Entscheidung dieser Frage vorläufig bei Seite lasse, gehe ich zur Besprechung der übrigen zwei Möglichkeiten betreffend die Inactivität des Gemisches von Toxin und Antitoxin über. Die beiden Voraussetzungen finden ihre Bestätigung in den Versuchen von WASSERMANN und CALMETTE. Ich versuchte nun, die Temperatur festzustellen, bei welcher nach der ersten Voraussetzung die Dissociation, nach der zweiten die moleculäre Regeneration stattfinden soll. Zur Illustration meiner Versuche dienen die Tabellen VI, VII und VIII.

Die in diesen Tabellen angeführten Daten berechtigen zu dem Schluss, dass in einem neutralen Gemisch von Toxin und entsprechendem Antitoxin, nach dem Erwärmen auf 60° bis 70°C weder freies Toxin, noch Antitoxin nachgewiesen werden können. Aus den Versuchen, welche in den Tab. III, VII (b I, d II) und VIII (b I, e II) zusammengestellt sind, ergiebt sich, dass in dem Maasse, wie die Temperatur steigt, die Kraft des Serums abnimmt und bei 70°C auf 1/4 ihrer ursprünglichen Grösse herabsinkt. Deshalb beschränkte ich mich auf diese Temperatur, denn Toxin und Antitoxin könnten, infolge ihrer raschen Zerstörung, bei dieser Temperatur kaum nachgewiesen werden, wenn sie im erwärmten Gemische auch frei vorhanden wären. Die von mir gewonnenen Resultate, mit Berücksichtigung der Versuche von WASSERMANN und CALMETTE, machen die Voraussetzung wahrscheinlich, dass entweder die Temperatur, bei welcher die Dissociation des Diphtherietoxin-Antitoxins stattfindet, die Grenze der Widerstandsfähigkeit der beiden überschreitet, oder dass sowohl Toxin, als Antitoxin, nachdem sie durch gegenseitige Einwirkung eine intramoleculäre Umgestaltung erfahren haben, durch das Erwärmen allein nicht regenerirt werden können. Diese Thatsachen, welche die Richtigkeit der Anschauung der Anhänger der Neutralisationswirkung des Serums bestätigen, lassen die Versuche von WASSERMANN und CALMETTE weniger überzeugend erscheinen und erklären das Zustandekommen der Activität (Giftigheit) des Gemisches durch die verhältnissmässig niedrige Temperatur der Dissociation resp. Regeneration, welche jedoch ausreicht, um die Zerstörung der frei gewordenen beziehungsweise regenerirten zweiten Componente (Antitoxin) zu Stande kommen zu lassen.

Indem ich mich entschieden zu Gunsten der Theorie aussprechen muss, dass in einem Gemisch von Toxin und Antitoxin beide Körper in einem veränderten Zustande (d. h. entweder an einander gebunden, oder moleculär umgestaltet) enthalten sind, möchte ich zugleich auch dem Vorwurfe begegnen, der mir eventuell gemacht werden könnte, namentlich, dass die Dauer des Erwärmens zu gering war, da die Einwirkung der Temperatur von 55° bis 65°C innerhalb 3 Stunden nicht genügt, um Toxin vollständig zu zerstören. Ich will nur darauf aufmerksam machen, dass bei 3-stündlichem Erwärmen auf 55°C nur 14,3 %, bei 60°—7,8 % und bei 65°—3,05 % Toxin unzerstört bleibt, eine Menge, welche den Tod der Versuchsthiere nicht bedingen kann, besonders wenn man berücksichtigt, dass das im erwärmten Gemische enthaltene Antitoxin, freilich nur bei 55° bis 65°C, vollständig verbraucht wird zur Neutralisation des nach dem Erwärmen zugesetzten Toxins. Es sei hier auch bemerkt, dass diese geringen Mengen Toxin auch deshalb nicht letal wirken können, weil das Verhältniss des reinen Toxins zu Toxoiden in denselben etwa 1 : 22,7 ist, d. h. nur $\frac{1}{22,7}$ Theil des Toxins giftige Eigenschaften besitzt. Diese theoretischen Erwägungen werden vollauf bestätigt durch die Versuche, deren Ergebnisse in Tab. IX, zusammengestellt sind. Bei diesen Versuchen wurde das neutrale Gemisch auf 55°C binnen 24 Stunden erwärmt, also unter Bedingungen, welche nothwendig sind, um das von mir erhaltene Toxin (siehe Tab. I) sowohl der giftigen Eigenschaften, als der Fähigkeit, Infiltrat zu erzeugen, zu berauben.

Die Versuchsresultate der Tab. IX stimmen mit den früher angegebenen vollkommen überein und berechtigen mich um so mehr, an der Richtigkeit der Neutralisationstheorie festzuhalten.

Es bleibt mir übrig, auf die Frage zurückzukommen bezüglich der Ursachen des partiellen Verschwindens des Antitoxins beim Erwärmen des Toxins mit der doppelten Menge des Antitoxins, als zu seiner Neutralisation nothwendig ist(1), sowie auch beim Erwärmen des Serums mit dem durch das vorausgehende Erwärmen zerstörten Toxin(2). Dieser Thatsache können, wie oben bemerkt, zwei Möglichkeiten zu Grunde liegen : 1° eine partielle Zerstörung von Antitoxin unter der Einwirkung von fremden Bestandtheilen des Toxins, und 2° eine partielle Neutralisation des Antitoxins durch das unvollständig zerstörte Toxin. Die Entscheidung der

(1) Siehe Tab. V, Versuch I e und II b, Tab. IX, Versuch b.

(2) Tab. V, Versuch I d, II d und e; Tab. VI, Versuch II c; Tab. VII, Versuch II c; Tab. IX, Versuch c.

## TABELLE IX.

| Nº des Meerschweinchens | Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection | Menge des eingespritzten Serums | Menge des eingespritzten Toxins | Menge im Gemische des erwärmten und eingespritzten | | | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Algemeine und locale Reaction des Meerschweinchens | Schlussfolgerung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Toxins | Toxin, erwärmt binnen 3 Stunden auf 55°C | Serums | | | |
| | | | | | *a)* Bestimmung der neutralisirenden Kraft des Toxins. | | | | |
| 360 | 402 | 0,0004 | 0,275 | | | | 377 | o. I. | 0,28 c.c. Toxin neutralisiren 1/10 Normaleinheiten Antitoxin. |
| 361 | 398 | 0,0004 | 0,28 | | | | 385 | o. I. | |
| 362 | 455 | 0,0004 | 0,285 | | | | 415 | I. s. k. | |
| | | | | | *b)* Bestimmung der neutralisirenden Kraft des innerhalb 24 Stunden auf 55°C erwärmten Serums. | | | | |
| 375 | 375 | | 0,275 | | | 0,0004 | 355 | o. I. | Kraft des Serums wurde nicht abgeschwächt. |
| 376 | 332 | | 0,28 | | | 0,0004 | 322 | o. I. | |
| 377 | 322 | | 0,285 | | | 0,0004 | 320 | I. s. k. | |
| | | | | | *c)* Bestimmung des freien Antitoxins in dem binnen 24 Stunden auf 55°C erwärmten Gemische. | | | | |
| 369 | 290 | | 0,275 | 0,275 | | 0,0004 | 278 | + am 2 T | Gemisch enthält kein freies Antitoxin. |
| 370 | 307 | | 0,28 | 0,28 | | 0,0004 | 288 | + am 2 T | |
| 371 | 342 | | 0,285 | 0,285 | | 0,0004 | 332 | + am 2 T | |
| | | | | | *d)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 24 Stunden auf 55°C. | | | | |
| 363 | 442 | | 0,275 | 0,275 | | 0,0008 | 390 | I. z. g. | Kraft des Serums wird nicht zerstört, sondern nur abgeschwächt. |
| 364 | 415 | | 0,28 | 0,28 | | 0,0008 | 382 | I. z. g. | |
| 365 | 382 | | 0,285 | 0,285 | | 0,0008 | 338 | I. g. | |
| | | | | | *e)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 24 Stunden auf 55°C. | | | | |
| 366 | 382 | | 0,275 | | 0,275 | 0,0008 | 370 | o. I. | Zerstörende Fähigkeit ist aufgehoben. |
| 367 | 372 | | 0,28 | | 0,28 | 0,0008 | 377 | o. I. | |
| 368 | 363 | | 0,285 | | 0,285 | 0,0008 | 345 | o. I. | |
| | | | | | *f)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 24 Stunden auf 55°C. | | | | |
| 372 | 340 | | 0,275 | | 0,275 | 0,0004 | 327 | I. k. | Kraft des Antitoxins wird nicht aufgehoben, sondern nur abgeschwächt. |
| 373 | 352 | | 0,28 | | 0,28 | 0,0004 | 342 | I. k. | |
| 374 | 365 | | 0,285 | | 0,285 | 0,0004 | 352 | I. k. | |

ersten Voraussetzung suchte ich durch folgende zwei Versuche zu erhalten. 1° Nachdem ich mittelst Titriren mit 1/10-normaler Milchsäure die Alkalinität meines Toxins festgestellt hatte (1), bereitete ich unter Annahme, dass die alkalische Reaction von der Anwesenheit des freien Ammoniak, welches bei der Zersetzung von Eiweiss durch Bacterien gebildet wird, herrühre, eine physiologische Kochsalzlösung mit demjenigen Procentgehalt Alkali, welchen ich im Toxin gefunden hatte (Ammoniak nach dem Titer der Michsäure). Von dieser Lösung nahm ich einige Proben zu 5 c.c. und einige zu 0,28 c.c., und setzte zu jeder von denselben diejenige Menge Serum hinzu, welche $\frac{1}{10}$ Einheit von BEHRING entspricht (0,0004 c.c.). Die Hälfte der Proben der ersten so wie der zweiten Serie wurde nun

(1) Als Indicator benutzte ich ein Gemisch von Lackmoid und Methylengrün.

auf 55°C 3 Stunden erwärmt und alsdann zu jeder erwärmten wie auch nicht erwärmten Probe 0,28 c.c. Toxin (eine Dosis, welche 0,0004 c.c. Serum genau neutralisirt) zugesetzt. Jede Probe wurde für sich untersucht und zwar durch subcutane Einspritzung bei Meerschweinchen von 250 gr. Gewicht. Nach der Einspritzung von den Proben, welche 0,28 c.c. Ammoniaklösung enthielten, ohne Rücksicht darauf, ob sie erwärmt wurden, oder nicht, kam es weder zu einer localen, noch zu einer allgemeinen Reaction; bei den Meerschweinchen dagegen, welche 5 c.c. Lösung (erwärmt so wie nicht erwärmt) unter die Haut bekommen hatten, konnte eine ausgedehnte Necrose der Haut an der Injectionsstelle constatirt werden. Diese Necrose war aber, wie ich mich durch die Section der Meerschweinchen überzeugen konnte, von dem Diphtheriegift unabhängig und entstand durch die Wirkung des Alkali, welches in den Versuchen der 2. Serie durch Zusatz von Toxin und Antitoxin bedeutend verdünnt war und deshalb keine Necrose hervorrufen konnte. Nach der Einspritzung von 5 c.c. dieser Ammoniaklösung allein beobachtete ich ebenfalls Necrose. Diese Versuche haben also gezeigt, dass Antitoxin nach Zusatz von sogar 1,248 gr. $NH_3$ auf 1 Liter Flüssigkeit beim Erwärmen auf 55°C nicht zerstört wird. Aehnliche Versuche mit Bouillon (benutzt als Nährboden), welche dieselbe Alkalinität besass wie Toxin, ergaben ebenfalls Resultate, die beweisen, dass fremde Bestandtheile des Toxins beim Erwärmen auf 55°C eine zerstörende Wirkung auf Antitoxin kaum entfalten können.

Somit bleibt uns nichts übrig, als die Richtigkeit der zweiten Voraussetzung anzunehmen, namentlich, dass die Verminderung der Menge des Antitoxins auf die neutralisirende Wirkung des nicht zerstörten Theiles Toxin zu beziehen ist. Dies erscheint um so mehr verständlich, als ja durch 3-stündliches Erwärmen auf 55° bis 65°C nicht alles Toxin zerstört wird. Wie ist aber die Thatsache zu erklären, dass auch beim Erwärmen auf 55°C innerhalb 24 Stunden, also bei völliger Zerstörung des Toxins, die Menge des Antitoxins gleichfalls vermindert wird? Es ist in diesem Falle anzunehmen, dass Toxin bei 24-stündlichem Erwärmen zwar die Fähigkeit verliert, locale Reaction (Infiltrat) hervorzurufen, zu einem gewissen Grade aber seine neutralisirende Eigenschaft gegenüber dem Antitoxin bewahrt. Diese Annahme wird auch thatsächlich durch Versuche bekräftigt. Setzt man zu 5 c.c. Toxin, welches man 24 Stunden bei 55°C erwärmte, und welches in dieser Menge nicht im Stande ist irgend welche locale Reaction zu bedingen, 0,0004 c,c. Serum und dann 0,28 c.c. Toxin hinzu, wobei 0,0004 c.c. Serum zu seiner Neutralisation genau 0,28 c.c. Toxin erfordert,

so wird das Gemisch activ und ruft, Meerschweinchen subcutan applicirt, bedeutendes Infiltrat hervor. Ganz analoge Vorgänge werden in einer sogar mehr prägnanten Form beobachtet, wenn ein Gemisch von erwärmtem Toxin und Serum vor dem abermaligen Hinzufügen von Toxin erwärmt wird. Aehnliches wurde auch beobachtet bei den Versuchen, welche in den Tab. V (Versuch d und e II) und VI (Versuch c und d II) angeführt sind. Diese interessanten Thatsachen lassen uns vermuthen, dass in dem sogar durch 24-stündliches Erwärmen auf 55°C zerstörten Toxin mindestens zwei Toxoide enthalten sein müssen, deren das eine sich mit Serum bereits bei gewöhnlicher Temperatur, das andere aber nur beim Erwärmen verbindet. Diese Annahme macht uns auch verständlich, warum Serum beim Vermengen und Erwärmen mit bereits zerstörtem Toxin mehr an seiner Kraft verliert, als beim Vermischen mit demselben Toxin bei gewöhnlicher Temperatur. Vollkommen analogen Erscheinungen begegnen wir auch bei den Versuchen I c und II b Tab. V und II c Tab. VII, die uns beweisen, dass Toxin, beim Erwärmen mit Antitoxin, eine grössere neutralisirende Kraft besitzt, als beim Vermengen mit dem letzteren bei gewöhnlicher Temperatur. Deshalb scheint uns der Schluss berechtigt, dass im Toxin ausser den von EHRLICH nachgewiesenen Pro-, Epi- und Syntoxoiden auch solche Toxoide enthalten sind, welche sich mit Antitoxin nur bei höherer Temperatur verbinden und welche ich als *Thermotoxoide* bezeichnen würde. Die Zusammensetzung eines jeden Diphterietoxins könnte nun folgendermassen ausgedrückt werden : x (Toxin) + y (Toxoide), wobei y wiederum aus vier Componenten besteht : y = α (Protoxoide) + β (Syntoxoide) + γ (Epitoxoide) + δ (Thermotoxoide). Diese complicirte Zusammensetzung des Toxins gestaltet sich aber, wie es scheint, viel einfacher, wenn das Toxin erwärmt wird. In diesem Falle gehen sowohl das Toxin wie die Toxoide in Epitoxoide über, worauf einige meiner Versuche unzweideutig hinweisen. Bei der Betrachtung des Versuches II Tab. VIII fällt uns auf, dass die Meerschweinchen der Serie c am Leben blieben, während diejenigen der Serie e am zweiten Tage nach der Einspritzung zu Grunde gingen. Der Unterschied in der Ausführung der Versuche der beiden Serien war nur der, dass Antitoxin bei den ersteren (Serie c) 3 Stunden bei 70°C mit Toxin, welches zuerst durch 3-stündliches Erwärmen bei 70°C zerstört worden war, bei den letzteren aber (Serie e) für sich in der Verdünnung 1 : 1000 erwärmt wurde. Der letale Ausgang der Versuche der Serie e ist ohne Weiteres klar. Antitoxin verlor bei 3-stündlichem Erwärmen auf 70°C 75 % von seiner ursprünglichen Neutralisirungskraft; als directe Folge davon war, dass 75 % des zugesetzten Toxins, oder mit

# TABELLE VIII.

| N° und Datum des Versuches | N° des Meerschweinchens | Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection | Menge des eingespritzten Serums | Menge des eingespritzten Toxins | Menge im Gemische des erwärmten und eingespritzten: Toxins | Toxin, erwärmt binnen 3 Stunden auf 70°C | Serums | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Allgemeine und locale Reaction des Meerschweinchens | Schlussfolgerung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *a)* Bestimmung der Kraft des Serums und der neutralisirenden Fähigkeit des Toxins. | | | | | | | | | |
| | 1293 | 475 | 0,0004 | 0,3 | | | | 488 | o. I. | Kraft = 280 Einh. 0,3 c.c. Toxin neutralisiren 0,00035 c.c. Serum. |
| | 1294 | 475 | 0,00035 | 0,3 | | | | 465 | o. I. | |
| | 1295 | 495 | 0,0003 | 0,3 | | | | 492 | I. k. | |
| | 1296 | 486 | 0,00025 | 0,3 | | | | 436 | I. z. g. | |
| | *b)* Bestimmung der Veränderung des Antitoxins beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 70°C. | | | | | | | | | |
| I | 1329 | 550 | | 0,3 | | | 0,0004 | 488 | † am 10 T. | Antitoxin hat beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 70°C sehr viel von seiner Kraft verloren. |
| | 1330 | 490 | | 0,3 | | | 0,00035 | 488 | Nekrose | |
| 1896 | 1331 | 475 | | 0,3 | | | 0 0003 | 410 | † am 3 T. | |
| | 1332 | 435 | | 0,3 | | | 0,00035 | 398 | † am 6 T. | |
| | *c)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 70°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | | |
| | 1333 | 430 | | 0,3 | 0,3 | | 0,0004 | 330 | † am 5 T. | Im erwärmten Gemische ist kein freies Antitoxin enthalten. |
| | 1334 | 405 | | 0,3 | 0,3 | | 0,00035 | 340 | † am 4 T. | |
| | 1335 | 380 | | 0,3 | 0,3 | | 0,0003 | 307 | † am 4 T. | |
| | 1336 | 395 | | 0,3 | 0,3 | | 0,00025 | 342 | † am 3 T. | |
| | *a)* Bestimmung der neutralisirenden Fähigkeit des Toxins. | | | | | | | | | |
| | 69 | 222 | 0,0004 | 0,255 | | | | 223 | o. I. | 0,265 c.c. ist die maximale Dosis des Toxins, welche 1/10 Normaleinheiten Antitoxin neutralisirt. |
| | 70 | 223 | 0,0004 | 0,26 | | | | 210 | o. I. | |
| | 71 | 217 | 0,0004 | 0,265 | | | | 218 | o. I. | |
| | 72 | 225 | 0,0004 | 0,27 | | | | 225 | I. s. k. | |
| | 73 | 225 | 0,0004 | 0,275 | | | | 208 | I. k. | |
| | *b)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 70°C. | | | | | | | | | |
| | 74 | 232 | | 0,255 | 0,255 | | 0,0008 | 197 | † am 3 T. | Im erwärmten Gemische ist kein freies Antitoxin enthalten. |
| | 75 | 240 | | 0,26 | 0,26 | | 0,0008 | 212 | † am 3 T. | |
| | 76 | 250 | | 0,265 | 0,265 | | 0,0008 | 220 | † am 3 T. | |
| | 77 | 255 | | 0,27 | 0,27 | | 0,0008 | 220 | † am 3 T. | |
| | 78 | 265 | | 0,275 | 0,275 | | 0,0008 | 287 | † am 3 T. | |
| II | *c)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 3 Stunden auf 70°C. | | | | | | | | | |
| | 79 | 262 | | 0,255 | | 0,255 | 0,0004 | 265 | I. k. | Toxin, auf 79°C erwärmt, behält die Fähigkeit Antitoxin zu binden und es an das nicht erwärmte Toxin abzugeben. |
| 1898 | 80 | 300 | | 0,26 | | 0,26 | 0,0004 | 275 | I. z. g. | |
| | 81 | 317 | | 0,265 | | 0,265 | 0,0004 | 312 | I. z. g. | |
| | 82 | 335 | | 0,27 | | 0,27 | 0,0004 | 302 | I. z. g. | |
| | 83 | 345 | | 0,755 | | 0,275 | 0,0004 | 295 | I. z. g. | |
| | *d)* Bestimmung der Anwesenheit des freien Antitoxins in dem innerhalb 3 Stunden auf 70°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | | |
| | 84 | 343 | | 0,255 | 0,255 | | 0,0004 | 315 | † am 3 T. | Im erwärmten Gemische ist kein freies Antitoxin enthalten. |
| | 85 | 385 | | 0,26 | 0,26 | | 0,0004 | 348 | † am 2 T. | |
| | 86 | 375 | | 0,265 | 0,265 | | 0,0004 | 360 | † am 2 T. | |
| | 87 | 348 | | 0,27 | 0,27 | | 0,0004 | 318 | † am 2 T. | |
| | 88 | 385 | | 0,275 | 0,275 | | 0,0004 | 373 | † am 2 T. | |
| | *e)* Bestimmung der neutralisirenden Fahigkeit des innerhalb 3 Stunden auf 70°C erwärmten Antitoxin. | | | | | | | | | |
| | 89 | 275 | | 0,255 | | | 0,0004 | 260 | † am 2 T. | Beim Erwärmen wird das Serum abgeschwacht. |
| | 90 | 262 | | 0,26 | | | 0,0004 | 250 | † am 2 T. | |
| | 91 | 262 | | 0,265 | | | 0,0004 | 218 | † am 2 T. | |
| | 92 | 302 | | 0,27 | | | 0,0004 | 277 | † am 2 T. | |
| | 93 | 267 | | 0,275 | | | 0,0004 | 255 | † am 2 T. | |

Menge desselben war jedoch deutlich vermindert. Diese Verminderung wäre vielleicht auf folgende zwei Umstände zu beziehen. 1° Es ist möglich, dass die fremden Stoffe des Toxins beim Erwärmen die Zerstörung des Antitoxins in einem geringen Grade doch beeinflussen. 2° Es könnte angenommen werden, dass in dem Toxin, ausser den bisher bekannten Toxoiden, auch solche enthalten sind, welche die Eigenschaft besitzen, sich mit dem Antitoxin nur bei höherer Temperatur zu verbinden. Indem ich die Entscheidung dieser Frage vorläufig bei Seite lasse, gehe ich zur Besprechung der übrigen zwei Möglichkeiten betreffend die Inactivität des Gemisches von Toxin und Antitoxin über. Die beiden Voraussetzungen finden ihre Bestätigung in den Versuchen von Wassermann und Calmette. Ich versuchte nun, die Temperatur festzustellen, bei welcher nach der ersten Voraussetzung die Dissociation, nach der zweiten die moleculäre Regeneration stattfinden soll. Zur Illustration meiner Versuche dienen die Tabellen VI, VII und VIII.

Die in diesen Tabellen angeführten Daten berechtigen zu dem Schluss, dass in einem neutralen Gemisch von Toxin und entsprechendem Antitoxin, nach dem Erwärmen auf 60° bis 70°C weder freies Toxin, noch Antitoxin nachgewiesen werden können. Aus den Versuchen, welche in den Tab. III, VII (b I, d II) und VIII (b I, e II) zusammengestellt sind, ergiebt sich, dass in dem Maasse, wie die Temperatur steigt, die Kraft des Serums abnimmt und bei 70°C auf 1/4 ihrer ursprünglichen Grösse herabsinkt. Deshalb beschränkte ich mich auf diese Temperatur, denn Toxin und Antitoxin könnten, infolge ihrer raschen Zerstörung, bei dieser Temperatur kaum nachgewiesen werden, wenn sie im erwärmten Gemische auch frei vorhanden wären. Die von mir gewonnenen Resultate, mit Berücksichtigung der Versuche von Wassermann und Calmette, machen die Voraussetzung wahrscheinlich, dass entweder die Temperatur, bei welcher die Dissociation des Diphtherietoxin-Antitoxins stattfindet, die Grenze der Widerstandsfähigkeit der beiden überschreitet, oder dass sowohl Toxin, als Antitoxin, nachdem sie durch gegenseitige Einwirkung eine intramoleculäre Umgestaltung erfahren haben, durch das Erwärmen allein nicht regenerirt werden können. Diese Thatsachen, welche die Richtigkeit der Anschauung der Anhänger der Neutralisationswirkung des Serums bestätigen, lassen die Versuche von Wassermann und Calmette weniger überzeugend erscheinen und erklären das Zustandekommen der Activität (Giftigheit) des Gemisches durch die verhältnissmässig niedrige Temperatur der Dissociation resp. Regeneration, welche jedoch ausreicht, um die Zerstörung der frei gewordenen beziehungsweise regenerirten zweiten Componente (Antitoxin) zu Stande kommen zu lassen.

Indem ich mich entschieden zu Gunsten der Theorie aussprechen muss, dass in einem Gemisch von Toxin und Antitoxin beide Körper in einem veränderten Zustande (d. h. entweder an einander gebunden, oder moleculär umgestaltet) enthalten sind, möchte ich zugleich auch dem Vorwurfe begegnen, der mir eventuell gemacht werden könnte, namentlich, dass die Dauer des Erwärmens zu gering war, da die Einwirkung der Temperatur von 55° bis 65°C innerhalb 3 Stunden nicht genügt, um Toxin vollständig zu zerstören. Ich will nur darauf aufmerksam machen, dass bei 3-stündlichem Erwärmen auf 55°C nur 14,3 %, bei 60°—7,8 % und bei 65°—3,05 % Toxin unzerstört bleibt, eine Menge, welche den Tod der Versuchsthiere nicht bedingen kann, besonders wenn man berücksichtigt, dass das im erwärmten Gemische enthaltene Antitoxin, freilich nur bei 55° bis 65°C, vollständig verbraucht wird zur Neutralisation des nach dem Erwärmen zugesetzten Toxins. Es sei hier auch bemerkt, dass diese geringen Mengen Toxin auch deshalb nicht letal wirken können, weil das Verhältniss des reinen Toxins zu Toxoiden in denselben etwa 1 : 22,7 ist, d. h. nur $\frac{1}{22,7}$ Theil des Toxins giftige Eigenschaften besitzt. Diese theoretischen Erwägungen werden vollauf bestätigt durch die Versuche, deren Ergebnisse in Tab. IX, zusammengestellt sind. Bei diesen Versuchen wurde das neutrale Gemisch auf 55°C binnen 24 Stunden erwärmt, also unter Bedingungen, welche nothwendig sind, um das von mir erhaltene Toxin (siehe Tab. I) sowohl der giftigen Eigenschaften, als der Fähigkeit, Infiltrat zu erzeugen, zu berauben.

Die Versuchsresultate der Tab. IX stimmen mit den früher angegebenen vollkommen überein und berechtigen mich um so mehr, an der Richtigkeit der Neutralisationstheorie festzuhalten.

Es bleibt mir übrig, auf die Frage zurückzukommen bezüglich der Ursachen des partiellen Verschwindens des Antitoxins beim Erwärmen des Toxins mit der doppelten Menge des Antitoxins, als zu seiner Neutralisation nothwendig ist (1), sowie auch beim Erwärmen des Serums mit dem durch das vorausgehende Erwärmen zerstörten Toxin (2). Dieser Thatsache können, wie oben bemerkt, zwei Möglichkeiten zu Grunde liegen : 1° eine partielle Zerstörung von Antitoxin unter der Einwirkung von fremden Bestandtheilen des Toxins, und 2° eine partielle Neutralisation des Antitoxins durch das unvollständig zerstörte Toxin. Die Entscheidung der

(1) Siehe Tab. V, Versuch I e und II b, Tab. IX, Versuch b.

(2) Tab. V, Versuch I d, II d und e; Tab. VI, Versuch II c; Tab. VII, Versuch II c; Tab. IX, Versuch c.

## TABELLE IX.

| Nr des Meerschweinchens | Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection | Menge des eingespritzten Serums | Menge des eingespritzten Toxins | Menge im Gemische des erwärmten und eingespritzten Toxins | Toxin, erwärmt binnen 3 Stunden auf 55°C | Serums | Gewicht des Meerschweinchens am Ende des Versuches | Algemeine und locale Reaction des Meerschweinchens | Schlussfolgerung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *a)* Bestimmung der neutralisirenden Kraft des Toxins. | | | | | | | | | |
| 360 | 402 | 0,0004 | 0,275 | | | | 377 | o. I. | 0,28 c.c. Toxin neutralisiren 1/10 Normaleinheiten Antitoxin. |
| 361 | 398 | 0,0004 | 0,28 | | | | 385 | o. I. | |
| 362 | 455 | 0,0004 | 0,285 | | | | 415 | I. s. k. | |
| *b)* Bestimmung der neutralisirenden Kraft des innerhalb 24 Stunden auf 55°C erwärmten Serums. | | | | | | | | | |
| 375 | 375 | | 0,275 | | | 0,0004 | 355 | o. I. | Kraft des Serums wurde nicht abgeschwächt. |
| 376 | 332 | | 0,28 | | | 0,0004 | 322 | o. I. | |
| 377 | 322 | | 0,285 | | | 0,0004 | 320 | I. s. k. | |
| *c)* Bestimmung des freien Antitoxins in dem binnen 24 Stunden auf 55°C erwärmten Gemische. | | | | | | | | | |
| 369 | 290 | | 0,275 | 0,275 | | 0,0004 | 278 | + am 2 T | Gemisch enthält kein freies Antitoxin. |
| 370 | 307 | | 0,28 | 0,28 | | 0,0004 | 288 | + am 2 T | |
| 371 | 342 | | 0,285 | 0,285 | | 0,0004 | 332 | + am 2 T | |
| *d)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 24 Stunden auf 55°C. | | | | | | | | | |
| 363 | 442 | | 0,275 | 0,275 | | 0,0008 | 390 | I. z. g. | Kraft des Serums wird nicht zerstört, sondern nur abgeschwächt. |
| 364 | 415 | | 0,28 | 0,28 | | 0,0008 | 382 | I. z. g. | |
| 365 | 382 | | 0,285 | 0,285 | | 0,0008 | 338 | I. g. | |
| *e)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 24 Stunden auf 55°C. | | | | | | | | | |
| 366 | 382 | | 0,275 | | 0,275 | 0,0008 | 370 | o. I. | Zerstörende Fähigkeit ist aufgehoben. |
| 367 | 372 | | 0,28 | | 0,28 | 0,0008 | 377 | o. I. | |
| 368 | 363 | | 0,285 | | 0,285 | 0,0008 | 345 | o. I. | |
| *f)* Bestimmung der Zerstörungskraft von neutralen Bestandtheilen des Toxins gegenüber dem Antitoxin beim Erwärmen innerhalb 24 Stunden auf 55°C. | | | | | | | | | |
| 372 | 340 | | 0,275 | | 0,275 | 0,0004 | 327 | I. k. | Kraft des Antitoxins wird nicht aufgehoben, sondern nur abgeschwächt. |
| 373 | 352 | | 0,28 | | 0,28 | 0,0004 | 342 | I. k. | |
| 374 | 365 | | 0,285 | | 0,285 | 0,0004 | 352 | I. k. | |

ersten Voraussetzung suchte ich durch folgende zwei Versuche zu erhalten. 1° Nachdem ich mittelst Titriren mit 1/10-normaler Milchsäure die Alkalinität meines Toxins festgestellt hatte (1), bereitete ich unter Annahme, dass die alkalische Reaction von der Anwesenheit des freien Ammoniak, welches bei der Zersetzung von Eiweiss durch Bacterien gebildet wird, herrühre, eine physiologische Kochsalzlösung mit demjenigen Procentgehalt Alkali, welchen ich im Toxin gefunden hatte (Ammoniak nach dem Titer der Michsäure). Von dieser Lösung nahm ich einige Proben zu 5 c.c. und einige zu 0,28 c.c., und setzte zu jeder von denselben diejenige Menge Serum hinzu, welche $\frac{1}{10}$ Einheit von Behring entspricht (0,0004 c.c.). Die Hälfte der Proben der ersten so wie der zweiten Serie wurde nun

(1) Als Indicator benutzte ich ein Gemisch von Lackmoid und Methylengrün.

auf 55°C 3 Stunden erwärmt und alsdann zu jeder erwärmten wie auch nicht erwärmten Probe 0,28 c.c. Toxin (eine Dosis, welche 0,0004 c.c. Serum genau neutralisirt) zugesetzt. Jede Probe wurde für sich untersucht und zwar durch subcutane Einspritzung bei Meerschweinchen von 250 gr. Gewicht. Nach der Einspritzung von den Proben, welche 0,28 c.c. Ammoniaklösung enthielten, ohne Rücksicht darauf, ob sie erwärmt wurden, oder nicht, kam es weder zu einer localen, noch zu einer allgemeinen Reaction; bei den Meerschweinchen dagegen, welche 5 c.c. Lösung (erwärmt so wie nicht erwärmt) unter die Haut bekommen hatten, konnte eine ausgedehnte Necrose der Haut an der Injectionsstelle constatirt werden. Diese Necrose war aber, wie ich mich durch die Section der Meerschweinchen überzeugen konnte, von dem Diphtheriegift unabhängig und entstand durch die Wirkung des Alkali, welches in den Versuchen der 2. Serie durch Zusatz von Toxin und Antitoxin bedeutend verdünnt war und deshalb keine Necrose hervorrufen konnte. Nach der Einspritzung von 5 c.c. dieser Ammoniaklösung allein beobachtete ich ebenfalls Necrose. Diese Versuche haben also gezeigt, dass Antitoxin nach Zusatz von sogar 1,248 gr. $NH_3$ auf 1 Liter Flüssigkeit beim Erwärmen auf 55°C nicht zerstört wird. Aehnliche Versuche mit Bouillon (benutzt als Nährboden), welche dieselbe Alkalinität besass wie Toxin, ergaben ebenfalls Resultate, die beweisen, dass fremde Bestandtheile des Toxins beim Erwärmen auf 55°C eine zerstörende Wirkung auf Antitoxin kaum entfalten können.

Somit bleibt uns nichts übrig, als die Richtigkeit der zweiten Voraussetzung anzunehmen, namentlich, dass die Verminderung der Menge des Antitoxins auf die neutralisirende Wirkung des nicht zerstörten Theiles Toxin zu beziehen ist. Dies erscheint um so mehr verständlich, als ja durch 3-stündliches Erwärmen auf 55° bis 65°C nicht alles Toxin zerstört wird. Wie ist aber die Thatsache zu erklären, dass auch beim Erwärmen auf 55°C innerhalb 24 Stunden, also bei völliger Zerstörung des Toxins, die Menge des Antitoxins gleichfalls vermindert wird? Es ist in diesem Falle anzunehmen, dass Toxin bei 24-stündlichem Erwärmen zwar die Fähigkeit verliert, locale Reaction (Infiltrat) hervorzurufen, zu einem gewissen Grade aber seine neutralisirende Eigenschaft gegenüber dem Antitoxin bewahrt. Diese Annahme wird auch thatsächlich durch Versuche bekräftigt. Setzt man zu 5 c.c. Toxin, welches man 24 Stunden bei 55°C erwärmte, und welches in dieser Menge nicht im Stande ist irgend welche locale Reaction zu bedingen, 0,0004 c.c. Serum und dann 0,28 c.c. Toxin hinzu, wobei 0,0004 c.c. Serum zu seiner Neutralisation genau 0,28 c.c. Toxin erfordert,

so wird das Gemisch activ und ruft, Meerschweinchen subcutan applicirt, bedeutendes Infiltrat hervor. Ganz analoge Vorgänge werden in einer sogar mehr prägnanten Form beobachtet, wenn ein Gemisch von erwärmtem Toxin und Serum vor dem abermaligen Hinzufügen von Toxin erwärmt wird. Aehnliches wurde auch beobachtet bei den Versuchen, welche in den Tab. V (Versuch d und e II) und VI (Versuch c und d II) angeführt sind. Diese interessanten Thatsachen lassen uns vermuthen, dass in dem sogar durch 24-stündliches Erwärmen auf 55°C zerstörten Toxin mindestens zwei Toxoide enthalten sein müssen, deren das eine sich mit Serum bereits bei gewöhnlicher Temperatur, das andere aber nur beim Erwärmen verbindet. Diese Annahme macht uns auch verständlich, warum Serum beim Vermengen und Erwärmen mit bereits zerstörtem Toxin mehr an seiner Kraft verliert, als beim Vermischen mit demselben Toxin bei gewöhnlicher Temperatur. Vollkommen analogen Erscheinungen begegnen wir auch bei den Versuchen I c und II b Tab. V und II c Tab. VII, die uns beweisen, dass Toxin, beim Erwärmen mit Antitoxin, eine grössere neutralisirende Kraft besitzt, als beim Vermengen mit dem letzteren bei gewöhnlicher Temperatur. Deshalb scheint uns der Schluss berechtigt, dass im Toxin ausser den von EHRLICH nachgewiesenen Pro-, Epi- und Syntoxoiden auch solche Toxoide enthalten sind, welche sich mit Antitoxin nur bei höherer Temperatur verbinden und welche ich als *Thermotoxoide* bezeichnen würde. Die Zusammensetzung eines jeden Diphterietoxins könnte nun folgendermassen ausgedrückt werden : x (Toxin) + y (Toxoide), wobei y wiederum aus vier Componenten besteht : y = $\alpha$ (Protoxoide) + $\beta$ (Syntoxoide) + $\gamma$ (Epitoxoide) + $\delta$ (Thermotoxoide). Diese complicirte Zusammensetzung des Toxins gestaltet sich aber, wie es scheint, viel einfacher, wenn das Toxin erwärmt wird. In diesem Falle gehen sowohl das Toxin wie die Toxoide in Epitoxoide über, worauf einige meiner Versuche unzweideutig hinweisen. Bei der Betrachtung des Versuches II Tab. VIII fällt uns auf, dass die Meerschweinchen der Serie c am Leben blieben, während diejenigen der Serie e am zweiten Tage nach der Einspritzung zu Grunde gingen. Der Unterschied in der Ausführung der Versuche der beiden Serien war nur der, dass Antitoxin bei den ersteren (Serie c) 3 Stunden bei 70°C mit Toxin, welches zuerst durch 3-stündliches Erwärmen bei 70°C zerstört worden war, bei den letzteren aber (Serie e) für sich in der Verdünnung 1 : 1000 erwärmt wurde. Der letale Ausgang der Versuche der Serie e ist ohne Weiteres klar. Antitoxin verlor bei 3-stündlichem Erwärmen auf 70°C 75 % von seiner ursprünglichen Neutralisirungskraft; als directe Folge davon war, dass 75 % des zugesetzten Toxins, oder mit

anderen Worten, die 6,8-fache tödtliche Minimaldosis für Meerschweinchen von 25o gr. Gewicht $\left(\frac{0,275}{0,03}=9,1; \frac{9,1\times75}{100}=6,8\right)$ frei blieb. Zur Erklärung der Versuchsresultate der Serie c muss angenommen werden, dass Antitoxin im Gemische des Serums mit Toxin, welches bei 70°C zerstört worden war, im gebundenen Zustande sich befand, sonst hätte es beim Erwärmen auf 70°C im gleichen Grade zerstört werden müssen, wie bei den Versuchen e. Aus dieser Annahme können folgende Schlüsse gezogen werden : 1° Toxin, 3 Stunden auf 70°C erwärmt, enthält, trotzdem es keine giftigen Eigenschaften noch die Fähigkeit, locale Reaction hervorzurufen, besitzt, sehr viele Toxoide. 2° Bei der Temperatur von 70° können die Toxoide an Antitoxin des Serums gebunden vorkommen. Was nun die Toxoide, welche in dem 3 Stunden auf 70°C erwärmten Toxin enthalten sind, anbetrifft, so können dieselben, wenn sie an Antitoxin des Serums gebunden sind, durch Zusatz von neuem Toxin wieder in Freiheit gesetzt werden, indem sich das zugesetzte Toxin, das allem Anscheine nach grössere Verwandtschaft zum Antitoxin hat, mit dem letzteren verbindet. Sie müssen deshalb zu den Epitoxoiden gerechnet werden. Die Menge dieser Toxoide ist nach der Berechnung (1) gleich 92,4 % der ursprünglichen activen Bestandtheile des Toxins vor dem Erwärmen desselben, woraus man folgern kann, dass beinahe alle Bestandtheile des Toxins beim Erwärmen in Epitoxoide übergehen.

In Bezug auf den zweiten Punkt lässt sich die Behauptung aufstellen, 1° dass Antitoxin im gebundenen Zustande höhere Temperaturen ertragen kann, ohne zersetzt zu werden, als im freien Zustande, und 2° dass bei der Temperatur, bei welcher Antitoxin zerfällt, Verbindungen desselben mit Toxoiden existiren können. Angesichts dieser Befunde scheint mir kein Grund mehr vorzuliegen, die Möglichkeit der Existenz von Verbindungen des Toxins mit Antitoxin bei 70°C und sogar darüber zu leugnen. Und wenn man die Richtigkeit dieser Schlussfolgerung anerkennt, so muss man auch zugeben, dass die Temperatur, bei welcher die Dissociation dieses Gemisches von Toxin und Antitoxin stattfindet, höher ist als diejenige,

---

(1) $\frac{0,275}{0,03}=9,1$, d. h. 9,1-fache minimale letale Dosis. Da die Versuchsthiere am Leben blieben, so muss folglich nur ein Theil einer letalen Dosis bei der Neutralisation frei geblieben sein; nehmen wir diesen Theil als gleich einer halben letalen Dosis an, so ergiebt sich, dass die 8,6-fache letale Dosis, d. i. $\frac{8,6\times100}{9,1}=92,4$ % Toxin neutralisirt wurde durch Serum, welches an Toxoide gebunden war.

welche zur Zerstörung einer jeden Componente desselben nothwendig ist. Dieser Umstand erklärt auch den negativen Ausfall unserer Versuche.

Zum Schluss möchte ich nochmals betonen, dass die Resultate meiner Untersuchungen in Widerspruch stehen mit denjenigen von MARENGHI, welcher behauptet, dass in einem Gemisch von Toxin und Antitoxin die beiden Körper frei bleiben. Die Versuche von MARENGHI sind wenig ausführlich angegeben worden, und ich kann deshalb die Quelle dieses Widerspruches nicht andeuten. Indem ich nun meine Untersuchungen genau beschreibe, glaube ich, die Lösung dieser wichtigen Frage könnte durch die entsprechenden Angaben des Verfassers betreffend die Anordnung seiner Versuche nur befördert werden.

*St Petersburg, 10 April 1898.*

# 14. Étude comparée de l'action physiologique et thérapeutique des chlorhydrates d'hydrastinine et de cotarnine

PAR

I. RONSSE.

## DEUXIÈME PARTIE[1].

### Introduction.

Au moment où nous terminions notre travail sur le chlorhydrate d'hydrastinine (janvier 1896), GOTTSCHALK[2] publia les premières observations cliniques sur le chlorhydrate de cotarnine, dont la composition chimique est très voisine de celle de l'hydrastinine et à laquelle il donna le nom de stypticine à cause de son pouvoir hémostatique dans les hémorrhagies utérines. D'après les recherches de ce clinicien, ces deux substances auraient une action thérapeutique presque équivalente. Leur étroite parenté chimique et leur effet curatif prétendûment identique nous ont engagé aussitôt à vérifier par l'expérimentation sur les animaux si leur action physiologique est aussi la même. Nous avons donc entrepris l'étude de l'action générale de la stypticine chez différentes espèces animales. En outre, comme l'hydrastinine agit spécialement par les modifications qu'elle

(1) Voir Arch. intern. de Pharmacodynamie, vol. IV, fasc. III et IV, p. 207—287.

(2) GOTTSCHALK: *Das Stypticin (Cotarnin. hydrochloric.) bei Gebärmutterblutungen.* Therap. Monatshefte, 1895, S. 646.

détermine dans la fonction circulatoire, nous nous sommes efforcé de préciser l'action spéciale de ce nouveau médicament sur le système circulatoire.

WÖHLER(1), en 1867, en oxydant la narcotine au moyen du nitrate de potassium provoqua la réaction suivante :

$$C_{22}\,H_{23}\,NO_7 + H_2O + O = \underset{\text{acide opianique}}{C_{10}\,H_{10}\,O_5} + \underset{\text{cotarnine}}{C_{12}\,H_{15}\,NO_4}$$

FREUND(2) de son côté, en 1892, faisant agir les corps oxydants sur l'hydrastine décomposa celle-ci d'une manière analogue en acide opianique et hydrastinine :

$$C_{21}\,H_{21}\,NO_6 + H_2O + O = \underset{\text{acide opianique}}{C_{10}\,H_{10}\,O_5} + \underset{\text{hydrastinine}}{C_{11}\,H_{13}\,NO_3}$$

La narcotine et l'hydrastine donnent donc par oxydation l'acide opianique d'une part et une base d'autre part. Le produit basique de la narcotine, la cotarnine, est semblable au produit basique de l'hydrastine, l'hydrastinine, par ses propriétés physiques et chimiques. En effet, la formule rationnelle de la cotarnine est la suivante :

```
                                C-O-CH3
                              //       \
                  CHO — C               C — O
                        |               ||      \
                                                  > CH2
  CH3-NH-CH2-CH2 — C               C — O  /
                        \\             /
                                CH
```

Celle de l'hydrastinine :

```
                                CH
                              //    \
                  CHO — C               C — O
                        |               ||      \
                                                  > CH2
  CH3-NH-CH2-CH2 — C               C — O  /
                        \\             /
                                CH
```

Ces deux substances ne diffèrent entre elles que par un atome d'hydrogène, qui a été remplacé par le groupement — $O\text{-}CH_3$ ; la cotarnine est donc la méthoxyl-hydrastinine.

La cotarnine(3) est solide, incolore, cristallisée en aiguilles groupées en étoiles. Elle se dissout très difficilement dans l'eau froide, mais est plus soluble dans l'eau chaude. Elle est très soluble dans l'alcool, qui se colore en brun, dans l'ammoniaque et l'éther, très peu dans la potasse caustique.

---

(1) WÖHLER : Annalen der Chemie, 50, S. 25.

(2) FREUND : Annalen der Chemie, 271, S. 316.

(3) Dictionnaire de WÜRTZ, tome I, 2e partie, page 978.

La cotarnine n'est pas volatile; elle fond vers 100° en perdant une molécule d'eau; à une température plus élevée, elle se charbonne en répandant une odeur désagréable.

D'après WÖHLER, la cotarnine se prépare en soumettant la narcotine à l'action du peroxyde de manganèse et de l'acide sulfurique : la cotarnine reste dissoute; on la sépare de la narcotine non attaquée et du sulfate de manganèse en portant le mélange à l'ébullition, ajoutant du carbonate de soude et filtrant de nouveau. On neutralise la solution par l'acide chlorhydrique, et on précipite la cotarnine à l'état de chloroplatinate par le perchlorure de platine. Le précipité, délayé dans l'eau bouillante, est soumis à un courant d'hydrogène sulfuré; il se forme du chlorhydrate de cotarnine qui reste en solution dans le liquide. Il suffit alors d'y ajouter de la baryte caustique, d'évaporer le tout à siccité et de reprendre le produit de l'évaporation par l'alcool, qui dissout la cotarnine.

Parmi les sels de cotarnine, nous relevons spécialement le chlorhydrate, qui nous occupera dans cette partie du travail, et que l'on obtient par l'action directe de la cotarnine sur l'acide chlorhydrique dilué.

Le chlorhydrate de cotarnine, introduit dans le commerce sous le nom de stypticine se présente sous forme de belles aiguilles soyeuses renfermant 2,5 molécules d'eau qui se dégagent à la température de 100°. Il possède un goût très amer et est très soluble dans l'eau; ses solutions aqueuses sont neutres.

## RECHERCHES EXPÉRIMENTALES.

### Historique.

Avant d'exposer nos recherches personnelles, passons rapidement en revue les quelques observations expérimentales et cliniques qui ont paru jusqu'à présent sur le chlorhydrate de cotarnine.

Déjà en 1870, BUCHHEIM et LOOS(1) ont étudié l'action de la cotarnine sur les animaux et l'ont rangée dans le groupe du curare parce qu'elle produirait, d'après eux, la paralysie des terminaisons des nerfs moteurs.

Plusieurs années plus tard, ISAAK OTT, (2) dans son étude sur les alcaloïdes de l'opium, confirma les résultats des expérimentateurs précédents; pour lui aussi, la cotarnine est un poison curariforme qui, en outre, provoquerait le sommeil.

---

(1) BUCHHEIM und LOOS : *Eckardt's Beitr. zur Anat. und Physiol.*, 1870, p. 179.

(2) ISAAK OTT : *Ueber die Wirkung der Opiumalkaloide.* Journ. of nerv. and ment. Disease, N. S IV, 1, p. 12. 47, 1878. Ref. in SCHMIDT's Jahrbuch, 1879, Nr 181, S. 118.

RAPH. STOCKMAN et D. B. DOTT (1) ont fait une étude comparée de la narcotine, de son produit de décomposition sans oxydation, l'hydrocotarnine, et de son produit d'oxydation, la cotarnine.

D'après ces auteurs, l'hydrocotarnine agirait quantitativement d'une manière plus énergique que la narcotine, qualitativement de la même façon (d'abord une action narcotique, puis un stade tétanique). La cotarnine se comporterait comme l'hydrocotarnine. L'action de la narcotine et celle de ses produits de décomposition ne présentent donc que des différences quantitatives et non qualitatives.

Depuis que nous avons commencé nos recherches personnelles, EDM. FALK (2) de Berlin a publié les résultats de son étude expérimentale sur la stypticine. Il a administré le médicament à des grenouilles et à des animaux à sang chaud. D'après cet auteur, des doses de 0,004 à 0,005 gr. injectées à une grenouille détermine une parésie. Des doses plus élevées, 0,015 à 0,05 gramme (3) provoquent la paralysie et de l'incoordination dans les mouvements. La sensibilité est complètement conservée; il n'y a cependant pas d'augmentation des réflexes. Une heure après l'injection, la paralysie est complète; celle-ci est d'origine centrale.

Le cœur faiblit par l'action de la stypticine; la diastole se prolonge et se fait souvent en deux temps; la systole est moins énergique et le nombre de contractions diminue.

Chez les animaux à sang chaud, la stypticine (0,1 gramme par kilo chez le lapin, 0,2 gramme chez le chien) produit sur le cerveau une action narcotique, qui ne va pourtant jamais jusqu'au sommeil. Elle augmente la péristaltique intestinale: les selles deviennent molles, sans être diarrhéiques.

Des doses plus fortes (0,4 gramme par kilo chez le lapin) provoquent, de plus, la paralysie, surtout marquée aux membres antérieurs; la dyspnée survient; le cœur, quoique ralenti, continue à battre. L'animal meurt par paralysie du centre respiratoire.

Chez le cobaye et le chien, l'action narcotique s'accompagne d'un tremblement musculaire général.

La stypticine ne possède pas d'action directe sur le cœur et le système

(1) RAPH. STOCKMAN and D. B. DOTT : *Report on the action of thebaine, narcotin and certain of their derivatives*. Brit. med. Journ. 1891, p. 157. Ref. in SCHMIDT's Jahrbuch, 1892, S. 15.

(2) EDM. FALK : *Cotarninum hydrochloricum (Stypticin)*. Therap. Monatshefte, 1896. Heft 1, S. 28.

(3) Ne serait-ce pas 0,005 à 0,015 que l'auteur a voulu écrire?

vasculaire; toutes les modifications que l'on observe dans cet appareil résultent des troubles de la respiration.

Ces données expérimentales ont engagé FALK à déconseiller en pratique la stypticine, celle-ci étant dépourvue des propriétés physiologiques qui confèrent à l'hydrastinine son action thérapeutique.

MARFORI,(1) expérimentant aussi sur les animaux, a trouvé que la dose mortelle est de 40 à 50 centigrammes par kilo chez le lapin et le cobaye. A des doses faibles la cotarnine n'exerce aucune influence sur l'appareil sensitif et la température du corps. Elle détermine d'abord des symptômes d'excitation du système nerveux et la paralysie ensuite. La mort survient par arrêt de la respiration. La stypticine n'élève pas la pression artérielle, elle l'abaisse même par des doses élevées. Elle n'exerce pas d'action vasoconstrictive sur les vaisseaux abdominaux qui pourrait expliquer l'action hémostatique que lui attribuent des cliniciens tels que GOTTSCHALK, GÄRTIG et NASSAUER. En effet, GOTTSCHALK(2) a administré le chlorhydrate de cotarnine en injections hypodermiques de 0,20 gramme par jour (solution aqueuse à 10 °/o), par la voie buccale, sous forme de poudres ou de perles, 5 à 6 fois 0,05 gramme par jour. A la suite de cette médication, il n'a jamais constaté de symptômes concomitants désagréables, à part un certain degré d'irritabilité et un état nauséeux qui surviennent chez certaines personnes très sensibles aux opiacés.

La stypticine produirait, en dehors de son pouvoir hémostatique, une action sédative très favorable dans la dysménorrhée. Comme inconvénient local des injections, l'observateur signale une sensation de brûlure et d'engourdissement.

Voici, d'après GOTTSCHALK, l'effet obtenu par la stypticine dans différentes affections utérines accompagnées d'hémorrhagies :

Les meilleurs résultats ont été enregistrés dans les hémorrhagies consécutives à la subinvolution utérine sans rétentions placentaires.

Dans les endométrites fongueuses, le médicament fournit des résultats excellents, mais il ne constitue cependant qu'un traitement palliatif et il faut préférer le curettage, quoique dans certains cas la stypticine ait arrêté des hémorrhagies qui n'avaient pas cessé après cette opération.

Les hémorrhagies provoquées par des myomes utérins et les hémorrhagies climatériques sont généralement diminuées par l'emploi de la stypticine.

---

(1) MARFORI : *Archives Italiennes de Biologie*, 1897, tome 28, fasc. 2, page 191.

(2) GOTTSCHALK, loc. cit., page 1.

Dans les hémorrhagies secondaires à des exsudats périutérins et des inflammations des annexes, les résultats sont moins favorables qu'avec l'hydrastinine; toutefois, il y a dans ces cas de grandes différences individuelles. Par contre, dans les hémorrhagies de nature purement congestive, la stypticine donne des résultats tout aussi satisfaisants que l'hydrastinine. Elle ne produit aucun effet en présence de polypes utérins.

En présence d'un danger d'avortement, dans les hémorrhagies pendant la grossesse, GOTTSCHALK déconseille la stypticine, qui, d'après lui, provoque des contractions utérines, soit en agissant directement sur la musculature, soit indirectement par l'anémie aiguë qu'elle détermine dans cet organe.

En ce qui concerne la question de la persistance de l'action curative, le clinicien n'ose pas encore se prononcer, n'ayant pas encore pu suivre les cas suffisamment longtemps.

GÄRTIG(1), de son côté, a prescrit la stypticine sous les mêmes formes, à des doses de 0,05 à 0,40 gramme par jour. Comme GOTTSCHALK, il n'a jamais observé d'effets concomitants désagréables, même après un usage prolongé pendant des semaines; mais il n'admet pas, contrairement à ce dernier, la production de contractions utérines.

Il résume le résultat de ses essais dans le petit tableau suivant :

Parmi 7 cas d'hémorrhagies simples, 11 cas d'endométrites hémorrhagiques, 11 cas de rétroflexions, 7 cas de subinvolution utérine, 3 cas d'hémorrhagies à l'âge critique, 3 cas d'hémorrhagies dans des annexites avec ou sans rétroflexions, 4 cas d'hémorrhagies provoquées par des myomes utérins, 4 cas de pertes sanguines dans des avortements imminents, les résultats les plus positifs ont été obtenus dans les hémorrhagies simples et celles de l'âge critique, les moins sensibles dans les endométrites, surtout quand celles-ci étaient accompagnées d'autres maladies (affection cardiaque). Les hémorrhagies pendant la grossesse n'ont nullement été influencées par la stypticine.

Enfin NASSAUER(2), ayant expérimenté la stypticine dans la clinique de GOTTSCHALK, résume 49 observations de la façon suivante :

1) Métrorrhagies de la ménopause : 3 cas, 3 guérisons.

---

(1) GÄRTIG : *Stypticin, ein neues Mittel im gynäkologischen Arzneischatz.* Therap. Monatsh., 1896, Heft II, S. 70.

(2) NASSAUER : Therap. Wochenschr., 1897, Nr 32 u. 33. Analysé dans Presse médicale. 1897, no 14, p. 84.

2) Métrorrhagies post abortum : 13 cas, 11 guérisons, 1 amélioration, 1 échec.

3) Métrorrhagies secondaires réflexes : 10 cas, 10 guérisons définitives.

4) Métrorrhagies par fibromes : 6 cas, 3 succès, 2 améliorations, 1 échec.

5) Endométrites hémorrhagiques : 11 cas, 6 échecs, 1 succès complet, 4 améliorations.

6) Métrorrhagies post partum : 2 cas, 2 succès.

7) Métrorrhagies dans carcinome : 1 cas, amélioration passagère.

8) Métrorrhagies sans lésions appréciables : 2 cas, 2 guérisons complètes.

9) Métrorrhagies avec imminence d'avortement : 1 cas, 1 succès.

10) Métrorrhagies dans 1 cas d'hémophilie, 1 échec.

Comme on peut s'en convaincre d'après ce qui précède, les recherches tant expérimentales que cliniques sur le chlorhydrate de cotarnine sont encore bien peu nombreuses ; des opinions contradictoires ont néanmoins déjà été émises sur différents points. Tandis que les premiers expérimentateurs (Buchheim et Loos, Is. Ott) admettent que la paralysie est d'origine périphérique et rangent la substance, pour cette raison, dans le groupe du curare ; Falk prétend que cette paralysie est purement centrale. Si Gottschalk, Gärtig et Nassauer lui attribuent un effet curatif très précieux dans les hémorrhagies utérines les plus diverses, Falk et Marfori déduisent de leurs expériences que cette action est très douteuse et en tout cas bien inférieure à celle du chlorhydrate d'hydrastinine.

Par nos recherches personnelles, nous avons contribué à élucider ces différents points en litige, ainsi que le mode d'action intime de ce nouveau médicament, auquel on veut faire depuis quelque temps une place dans le traitement médicamenteux des affections utérines. Nous commencerons l'exposé de ces recherches par quelques données de son action sur l'organisme en général chez les grenouilles, comme animaux à sang froid, chez les chiens et les lapins comme animaux à sang chaud. Nous ferons ensuite une étude approfondie des modifications qui surviennent dans le système circulatoire. Au cours de nos recherches, pour des raisons que nous avons déjà indiquées dans la 1re partie de notre travail, nous avons été amené à faire des soustractions sanguines avant d'administrer la stypticine. Comme les modifications circulatoires que nous avons vu survenir à la suite de ces saignées ne concordent nullement avec celles qui sont décrites dans les traités classiques, fait déjà signalé plus haut, nous avons intercalé dans la 2e partie un chapitre spécial se rapportant aux modifications de la

circulation après la saignée. Nous terminerons par une étude comparative de l'action de la stypticine et du chlorhydrate d'hydrastinine en faisant ressortir les avantages et les désavantages de l'un et de l'autre.

## EXPÉRIENCES PERSONNELLES.

### Intoxication aiguë.

*Grenouille.* — Les grenouilles *(rana temporaria)* qui ont servi à nos expériences pesaient en moyenne 20 grammes. La dose mortelle, en injection dans le sac lymphatique du dos, est de 5 à 10 milligrammes.

Des doses plus faibles (3 à 4 milligrammes) produisent au bout de 5 à 10 minutes de la parésie, limitée d'abord aux pattes antérieures et s'étendant ensuite aux postérieures. La parésie s'accuse encore davantage dans la suite; au bout d'un temps assez variable (30 minutes à une heure), il survient une paralysie presque complète : les animaux, couchés sur le dos, ne parviennent plus à se relever. Plus tard encore, la motilité reparaît, et 2 à 3 heures après l'injection, les grenouilles semblent revenues à l'état normal.

Les réflexes suivent les mêmes modifications que la motilité; ils ne sont exagérés à aucun moment.

La respiration s'altère profondément dès le début de l'intoxication; 5 à 10 minutes après l'administration de la stypticine, la respiration buccale, parfois après une accélération momentanée, se ralentit, devient superficielle et irrégulière; ultérieurement elle s'arrête.

Des doses mortelles amènent les mêmes symptômes, mais ceux-ci sont plus intenses : la paralysie est complète, la respiration s'arrête, les réflexes disparaissent.

Il ne survient jamais de période d'excitation, la dépression s'installe d'emblée.

La paralysie est d'origine centrale : quand tous les réflexes ont disparu, l'excitation de la moelle épinière au moyen du courant de la bobine d'induction de l'appareil de DU BOIS-REYMOND, ne produisant plus de contractions, la même excitation du bout périphérique des nerfs moteurs (nerf sciatique) détermine encore une réaction très sensible dans les muscles correspondants. Ceux-ci restent excitables en dernier lieu.

Quand tous les signes extérieurs de la vie ont disparu, le cœur, mis à nu, bat encore faiblement et lentement.

Pour mieux étudier les modifications des mouvements cardiaques, nous avons fixé des grenouilles, et, à travers une fenêtre pratiquée à la

région sternale, nous avons suivi tous les changements qui surviennent dans le fonctionnement de cet organe. Le tableau suivant donne le résumé de ces expériences. A côté des grenouilles, injectées avec des solutions de concentrations différentes de stypticine, nous avons pris une grenouille témoin, qui n'a reçu que du liquide physiologique. Toutes les injections ont été pratiquées sous un volume d'un demi centimètre cube :

| | I. Solution physiologique. | II. 1 milligr. | III. 2.5 milligr. | IV. 5 milligr. | V. 10 milligr. | VI. 15 milligr. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Avant l'injection : | 14 en 15 secondes | 14 | 10 | 12 | 13 | 14 |
| 5 min. après l'injection : | 13 » | 13 | 10 | 11 | 12 | 12 |
| 10 » | 13 » | 13 | 10 | 10 | 11 | 9 |
| 15 » | 12 » | 12 | 10 | 8 | 10 | 6 |
| 20 » | 12 » | 12 | 9 | 7 | 9 | 4 |
| 25 » | 12 » | 11 | 9 | 7 | 7 | 3 |
| 30 » | 12 » | 11 | 9 | 6 | 8 | 3 |
| 40 » | 12 » | 11 | 9 | 5 | 7 | 3 |
| 50 » | 12 » | 11 | 9 | 5 | 7 | 3 |
| 60 » | 13 » | 11 | 9 | 5 | 6 | 3 |
| 75 » | 12 » | 12 | 8 | 5 | 6 | 2.5 |

Ce tableau nous démontre qu'il survient d'emblée un ralentissement des battements cardiaques, d'autant plus marqué et plus rapide que les doses sont plus fortes.

A l'inspection, on voit, en outre, que la diastole se prolonge, les contractions deviennent plus faibles, l'afflux de sang, de plus en plus veineux, devient de moins en moins abondant. De même, les cœurs de grenouilles, extirpés avec toutes les précautions, se ralentissent et s'arrêtent rapidement dans une solution physiologique additionnée de stypticine.

*Lapin.* — La dose mortelle en injection hypodermique est environ de 30 à 35 centigrammes par kilo d'animal. Des doses de 20 à 25 centigrammes par kilo amènent une légère accélération des mouvements respiratoires, un ralentissement sensible des battements cardiaques et une augmentation de la péristaltique intestinale; les selles deviennent molles, mais il ne survient pas de véritable diarrhée.

On ne constate aucune modification anormale dans le volume et le rythme des vaisseaux auriculaires.

La paralysie n'apparaît pas; l'animal présente tout au plus une certaine lassitude et se couche sur le flanc.

90 minutes à 2 heures après l'injection, l'état normal semble être revenu.

Des doses mortelles provoquent, après une accélération passagère, un ralentissement de la respiration; celle-ci devient bientôt dyspnéique, pénible et s'arrête au bout de 25 minutes ou davantage.

Le cœur se ralentit au fur et à mesure que l'intoxication progresse; cette diminution de fréquence est précédée parfois d'une légère accélération pendant les premières minutes qui suivent l'administration de stypticine. Les battements du cœur sont aussi plus forts; ils ébranlent davantage la paroi thoracique qu'à l'état normal.

20 à 25 minutes après l'injection, la parésie apparaît dans les membres antérieurs; les membres postérieurs ne sont atteints que quelques minutes avant la mort. L'animal se tient immobile, l'avant-train abaissé, la tête penchée entre les pattes antérieures ou inclinée sur le côté.

La mort n'est précédée que de quelques contractions cloniques, généralement limitées aux membres postérieurs.

A la fin, il survient un tremblement général.

Comme chez la grenouille, la stypticine ne détermine à aucun moment une excitation manifeste.

A l'autopsie, les oreillettes et le ventricule droit sont distendus, le ventricule gauche est vide.

*Chien.* — La dose mortelle en injection hypodermique s'élève environ à 0,20 gramme par kilo d'animal. Des doses faibles (0,10 à 0,15 gramme par kilo) produisent dès le début l'accélération des pulsations cardiaques.

Les modifications de la respiration sont peu appréciables.

Les troubles moteurs apparaissent tardivement, soit 2 à 3 heures après l'administration de la stypticine. La parésie débute dans les muscles extenseurs du cou, se limite tantôt à ce groupe de muscles, tantôt s'étend aux membres antérieurs.

Des doses plus fortes, voisines de la dose mortelle, amènent les mêmes symptômes, mais à un plus haut degré : la parésie envahit les quatre membres et se transforme en une paralysie presque complète.

La sensibilité est conservée ou diminuée.

La péristaltique intestinale augmente; l'animal évacue des selles molles et même liquides; il a souvent des nausées et des vomissements.

Quand la paralysie est presque complète depuis 30 à 60 minutes, la motilité revient presque brusquement d'une manière passagère; l'animal, qui jusqu'alors ne pouvait faire aucun mouvement, se redresse et marche

même. Quelques minutes plus tard, il retombe dans un état de paralysie profonde. Ces alternatives se répètent pendant des heures. 5 à 6 heures après l'injection, l'animal reste couché, la paralysie diminue peu à peu, mais il faut encore des heures avant que l'état normal soit rétabli.

Dès le début de l'intoxication il apparaît un tremblement général, surtout marqué à l'inspiration, qui se maintient jusqu'à la fin.

L'animal ne présente à aucun moment une période d'excitation.

L'accélération du cœur est persistante; pendant les périodes de paralysie très avancée, il survient un ralentissement, sans que la fréquence devienne toutefois subnormale.

Des doses mortelles déterminent la mort au bout de 1 à 3 heures, ou plus tard encore, suivant la quantité de stypticine injectée, après avoir amené les mêmes symptômes que les doses plus faibles.

Le cœur, accéléré pendant longtemps, se ralentit quelques minutes avant la mort. La respiration, peu influencée par les doses précédentes, devient ici dyspnéique, pénible, se ralentit. La mort est due à l'arrêt de la respiration.

A l'autopsie, les oreillettes et le ventricule droit sont remplis de sang, le ventricule gauche est vide.

## CIRCULATION.

Ces données sur l'intoxication aiguë chez les animaux permettront peut-être de diagnostiquer une intoxication chez l'homme, même à ses débuts, mais elles ne nous fournissent aucun renseignement précis servant à expliquer l'action thérapeutique que GOTTSCHALK, GÄRTIG et NASSAUER attribuent à la stypticine et qui se rapporte exclusivement aux hémorrhagies utérines. Il est probable que l'étude plus approfondie des modifications de la circulation permettra d'expliquer physiologiquement le pouvoir hémostatique de cette substance, avec ou sans le concours d'une action locale sur l'utérus. C'est du reste à ces changements circulatoires que l'hydrastinine doit ses propriétés analogues. Nous avons donc été amené naturellement à rechercher d'une façon spéciale les modifications que le chlorhydrate de cotarnine détermine dans l'appareil circulatoire. Nous exposons dans le chapitre suivant le résultat de ces recherches.

Les animaux, dont nous nous sommes servi sont le chien et le lapin : 1. Nous avons commencé nos expériences par des injections intraveineuses et hypodermiques de stypticine à des animaux normaux. 2. Nous avons pratiqué ensuite les mêmes injections à des animaux soumis au préalable *a)* à l'action du chloral *b)* à l'action du sulfate d'atropine. 3. Nous avons

ensuite étudié l'action de la stypticine après la section d'un ou des deux pneumogastriques. 4. Nous avons encore recherché son action sur la circulation après soustraction sanguine. 5. Nous avons terminé par l'étude des modifications de la circulation locale dans l'utérus chez les lapines pleines.

Comme dans les expériences sur l'hydrastinine, les chiens ont été fixés sur la gouttière de CL. BERNARD, les lapins sur l'appareil de CZERMAK. Nous avons lié le bout périphérique d'une carotide et mis le bout central en rapport avec un manomètre à membrane métallique de GAD et le tambour enregistreur de LUDWIG par l'intermédiaire d'un tube et d'une canule de verre.

Au lieu d'une solution saturée de sulfate de magnésium (1), que nous avions employée d'abord, nous avons essayé une solution moins concentrée du même sel, ayant une densité légèrement supérieure à celle du sang. La solution qui nous a donné les meilleurs résultats est celle d'une densité d'environ 1,050. Après des heures (6 heures et plus) elle reste encore parfaitement incolore et aucune coagulation ne se produit. C'est cette solution qui nous a servi dans toutes les expériences qui suivent et dont nous pouvons recommander l'usage.

Le chronographe de Jaquet marque le temps en dessous de la ligne de zéro de la pression artérielle.

Les injections intraveineuses ont été faites par une veine jugulaire externe, presque toujours sous un volume de 5 centimètres cubes et sous une pression faible et constante (environ 15 centimètres d'eau).

Dans les cas de curarisation, la respiration artificielle a été pratiquée à l'aide de l'appareil de ROSENTHAL (2).

Pour faire des saignées, nous avons lié le bout périphérique d'une artère crurale, et, pour les soustractions très fortes, d'une carotide; une pince à pression étant placée sur le bout central, nous avons introduit dans l'artère une canule en verre munie d'un tube en caoutchouc. Il suffisait d'enlever la pince pour obtenir la saignée et de la replacer sur le tube en caoutchouc pour arrêter l'écoulement.

La membrane métallique du manomètre s'étant perforée au cours de nos expériences, nous avons dû la remplacer par une autre d'une élasticité différente. Tous les graphiques, faits avant le 23 mars 1896, correspondent à l'échelle N° I; à partir de cette date, leur valeur absolue se mesure par l'échelle N° II. (Voir planche V.)

---

(1) F. SCHENCK : *Physiologisches Practicum*, 1895, S. 264.

(2) ROSENTHAL : *Archiv für Anatomie und Physiologie*, physiol. Abth., 1889, S. 64.

## I. Injections intraveineuses de stypticine.

*Chien.* — 1. Chien. Poids : 4500 grammes. (15—4—1896.)

Injection de 1 centigramme de stypticine.

*Fréquence.* — Avant l'injection : 66 en 30 secondes.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes | après | l'injection : | 65 | » | » | » |
| 10 | » | » | 64 | » | » | » |
| 15 | » | » | 61 | » | » | » |
| 20 | » | » | 61 | » | » | » |
| 30 | » | » | 67 | » | » | » |
| 40 | » | » | 66 | » | » | » |
| 50 | » | » | 64 | » | » | » |
| 60 | » | » | 64 | » | » | » |

*Amplitude.* — Ne subit guère de modifications.

*Pression.* — A part une très légère élévation à la fin de l'injection et les premières secondes qui suivent, les pressions minimale et maximale ne changent pas.

2. Chien. Poids : 4500 grammes. (15—4—1896.)

Injection de 5 centigrammes.

70 minutes après une injection de 1 centigramme, nous pratiquons une injection de 5 centigrammes.

*Fréquence.* — Avant l'injection : 61 en 30 secondes.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes | après | l'injection : | 65 | » | » | » |
| 10 | » | » | 62 | » | » | » |
| 20 | » | » | 62 | » | » | » |
| 35 | » | » | 70 | » | » | » |
| 55 | » | » | 67 | » | » | » |
| 70 | » | » | 69 | » | » | » |
| 130 | » | » | 62 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente notablement pendant l'injection et les premières minutes qui suivent; elle revient alors sensiblement à la normale pendant 15 minutes; l'amplitude s'accroît de nouveau et se maintient surnormale pendant 65 minutes; elle devient ensuite normale et légèrement subnormale.

*Pression.* — A) *minimale :* à cause de l'augmentation de l'amplitude, elle baisse pendant l'injection, et immédiatement après; 2 minutes plus tard, elle s'est légèrement élevée au-dessus de la normale, s'y maintient environ 5 minutes et revient ensuite à la normale pendant le reste de l'expérience.

B) *maximale :* s'élève dès le début de l'injection; cette élévation persiste pendant plus d'une heure; elle revient ensuite à la hauteur initiale.

3. Chien. Poids : 4800 grammes. (14—4—1896.)

Injection de 10 centigrammes.

*Fréquence.* — Avant l'injection : 66 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | minutes | après l'injection : | | 50 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 64 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 70 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 68 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | 75 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 72 | » | » | » |
| 45 | » | » | » | 67 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | 65 | » | » | » |
| 105 | » | » | » | 67 | » | » | » |
| 125 | » | » | » | 63 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente considérablement pendant l'injection et les premières secondes qui suivent; elle diminue ensuite rapidement et reste subnormale pendant 5 minutes. L'amplitude croît alors graduellement, atteint son maximum au bout de 30 minutes, et décroît après graduellement jusqu'à la fin de l'expérience. A ce moment, l'amplitude dépasse encore l'étendue initiale.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse brusquement dès le début de l'injection par suite de l'augmentation de l'amplitude. Dès les premières secondes qui suivent l'administration de la stypticine elle s'élève au-dessus de la normale pendant 5 minutes, revient ensuite à la normale et tombe en dessous, d'une façon d'autant plus marquée que l'amplitude est plus grande.

B) *maximale :* s'élève dès le début de l'injection et se maintient sensiblement au dessus de la pression initiale jusqu'à la fin de l'expérience.

4. Chien. Poids : 4800 grammes. (14—4—1896.)

Injection de 15 centigrammes.

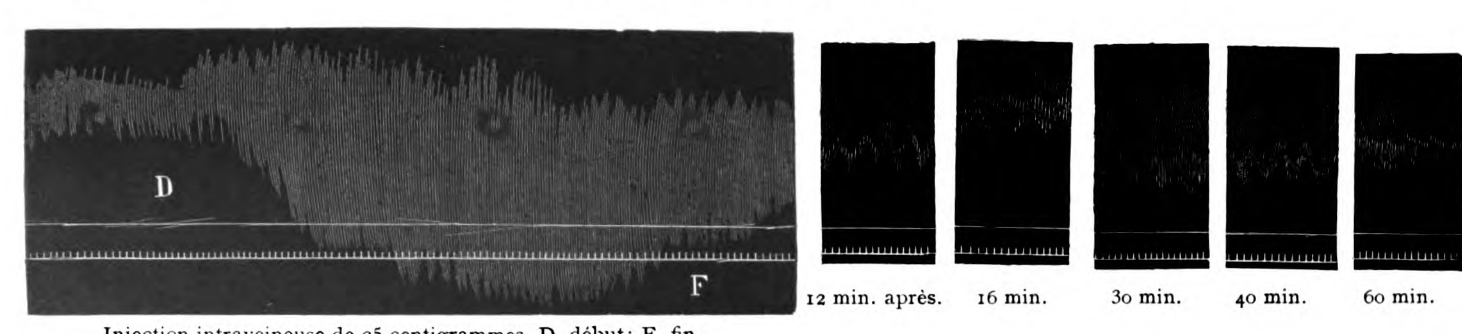
Environ 4 heures après une injection de 10 centigrammes, nous pratiquons une nouvelle injection de 15 centigrammes :

*Fréquence.* — Avant l'injection : 60 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | minutes | après l'injection : | | 59 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | 79 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | 81 | » | » | » |
| 50 | » | » | » | 76 | » | » | » |
| 65 | » | » | » | 77 | » | » | » |
| 80 | » | » | » | 79 | » | » | » |
| 105 | » | » | » | 66 | » | » | » |
| 125 | » | » | » | 61 | » | » | » |

PLANCHE I.

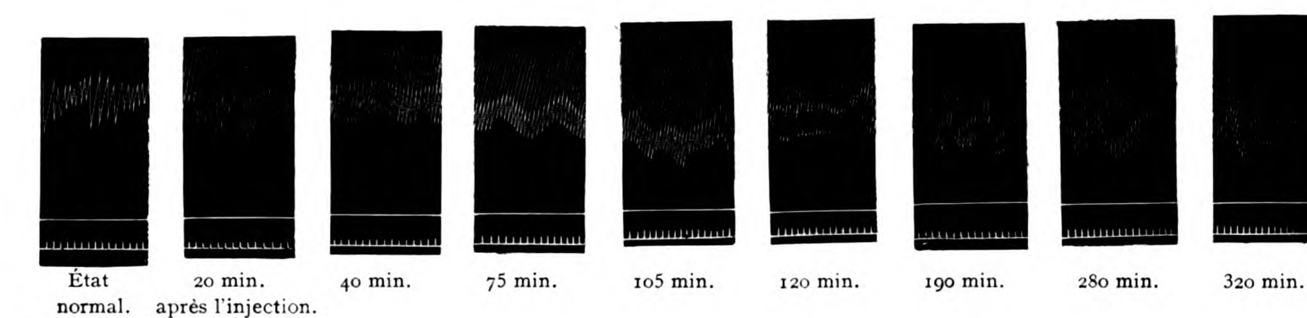
Chien. Poids : 3200 grammes.




Injection intraveineuse de 25 centigrammes. D. début; F. fin.

Pression réelle = pression indiquée + 12 millimètres.

Chien. Poids : 4200 grammes. — Injection hypodermique de 35 centigrammes.



*Amplitude.* — Augmente sensiblement pendant l'injection. Dès les premières secondes qui suivent, elle devient subnormale pendant 15 minutes environ; elle augmente ensuite graduellement, atteint son maximum au bout de 80 minutes et décroît ensuite jusqu'à la fin, où elle est encore notablement surnormale.

*Pression.* — A) *minimale :* à part l'abaissement pendant l'injection, la pression s'élève au dessus de la normale pendant une heure. Elle revient ensuite sensiblement à la normale jusqu'à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* s'élève pendant l'injection, tombe en dessous de la normale pendant 15 minutes et redevient à partir de ce moment légèrement surnormale jusqu'à la fin.

5. Chien. Poids : 3200 grammes. (12—2—1896.)

Injection de 25 centigrammes. (Voir planche I.)

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant l'injection : | | | | 80 en 30 secondes. | | | |
| 5 minutes après l'injection : | | | | 61 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 61 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 89 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 110 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | 105 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 108 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | 106 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | 109 | » | » | » |
| 50 | » | » | » | 111 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | 106 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente considérablement pendant l'injection; elle diminue ensuite et devient subnormale quelques secondes après l'administration de stypticine; elle augmente de nouveau graduellement et dépasse la normale 15 minutes plus tard. Cet accroissement s'accuse progressivement jusqu'à atteindre un maximum environ 30 minutes après l'injection. L'amplitude diminue alors peu à peu, mais dépasse encore sensiblement l'étendue initiale à la fin de l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe brusquement pendant l'injection; s'élève rapidement après l'administration de stypticine, atteint la hauteur initiale et la dépasse pendant 15 minutes; elle tombe ensuite en dessous de la normale à cause de l'augmentation de l'amplitude.

B) *maximale :* s'élève au début de l'injection, mais tombe bientôt en dessous de la normale. Après l'injection, elle se relève, dépasse la normale pendant 10 à 15 minutes et revient au niveau primitif jusqu'à la fin de l'expérience.

*Lapin.* — 1. Lapin N° 57. Poids : 2400 grammes. (9—2—1896.)
Injection de 1 centigramme.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant l'injection : | | | 134 | en | 30 | secondes |
| 5 | minutes après | l'injection : | 133 | » | » | » |
| 10 | » | » | 126 | » | » | » |
| 15 | » | » | 131 | » | » | » |
| 20 | » | » | 123 | » | » | » |

*Amplitude.* — Diminue légèrement pendant l'injection; cette diminution est persistante.

*Pression.* — A) ***minimale*** : à cause de la diminution de l'amplitude, elle s'élève très légèrement pendant toute la durée de l'expérience.

B) ***maximale*** : à part une faible élévation pendant l'injection et la première minute qui suit, elle tombe d'une façon permanente très légèrement en dessous de la normale.

2. Lapin N° 61. Poids : 2370 grammes. (9—2—1896.)
Injection de 3 centigrammes.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant l'injection : | | | 135 | en | 30 | secondes. |
| 5 | minutes après | l'injection : | 117 | » | » | » |
| 10 | » | » | 108 | » | » | » |
| 15 | » | » | 113 | » | » | » |
| 20 | » | » | 107 | » | » | » |
| 25 | » | » | 110 | » | » | » |
| 30 | » | » | 126 | » | » | » |
| 35 | » | » | 124 | » | » | » |
| 40 | » | » | 128 | » | » | » |

*Amplitude.* — Diminue pendant l'injection et les 10 premières minutes qui suivent, redevient normale et surnormale pendant le reste de l'expérience.

*Pression.* — A) ***minimale*** : tombe tout au début de l'injection, mais s'élève au dessus de la normale pendant l'administration de stypticine et les 5 min. qui suivent; redevient normale, et légèrement subnormale ensuite.

B) ***maximale*** : après un léger abaissement au début de l'injection, elle devient encore surnormale pendant et après l'injection; 4 à 5 minutes après l'administration de la stypticine, elle est redevenue normale, tombe ensuite légèrement en dessous de la pression initiale, mais s'élève de nouveau à la normale au bout de quelques minutes.

Lapin N° 57. Poids : 2400 grammes. (9—2—1896.)
Injection de 10 centigrammes.

20 minutes après une injection de 1 centigramme nous pratiquons une nouvelle injection de 10 centigrammes.

*Fréquence.* — Avant l'injection : 123 en 30 secondes.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 minute après l'injection : | | | 55 | » | » | » |
| 5 | » | » | » 119 | » | » | » |
| 10 | » | » | » 108 | » | » | » |
| 15 | » | » | » 119 | » | » | » |
| 20 | » | » | » 122 | » | » | » |
| 30 | » | » | » 128 | » | » | » |
| 40 | » | » | » 129 | » | » | » |
| 45 | » | » | » 137 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente notablement pendant l'injection et les premières minutes qui suivent; 2 à 3 minutes après l'administration de stypticine elle devient très inférieure à la normale; cette diminution persiste pendant 20 minutes; au bout de ce temps, elle est devenue normale et bientôt surnormale pendant tout le reste de l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale :* s'abaisse pendant l'injection; s'élève au dessus de la normale dès la 1re minute qui suit. Cette élévation persiste pendant 20 minutes; la pression devient alors normale, et subnormale ensuite.

B) *maximale :* s'élève pendant l'injection et se tient légèrement au dessus de la normale jusqu'à la fin de l'expérience.

4. Lapin No 61. Poids : 2370 grammes. (9—2—1896.)

Injection de 15 centigrammes.

45 minutes après l'injection de 5 centigrammes nous pratiquons une nouvelle injection de 15 centigrammes.

*Fréquence.* — Avant l'injection : 133 en 30 secondes.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après l'injection : | | | 89 | » | » | » |
| 10 | » | » | » 112 | » | » | » |
| 15 | » | » | » 118 | » | » | » |
| 20 | » | » | » 123 | » | » | » |
| 25 | » | » | » 133 | » | » | » |
| 30 | » | » | » 142 | » | » | » |
| 35 | » | » | » 140 | » | » | » |

*Amplitude.* — A part une augmentation passagère au début de l'injection, l'amplitude diminue sensiblement pendant l'administration de la stypticine, et surtout les premières secondes qui suivent; puis elle augmente rapidement et dépasse notablement la normale pendant 1 à 2 minutes, et tombe ensuite en dessous de la normale pendant 30 minutes; à ce moment, elle est sensiblement normale.

*Pression.* — A) *minimale :* après une élévation passagère à la fin de l'injection et les premières secondes qui suivent, elle baisse fort pendant

2 minutes; monte bientôt rapidement, et dépasse la normale pendant 20 minutes; à ce moment, elle est revenue à la normale et tombe ensuite en dessous.

B) ***maximale :*** à part une très légère élévation au début de l'injection, elle tombe en dessous de la normale pendant l'injection et les 2 à 3 minutes qui suivent, puis la dépasse pendant 3 minutes, reste normale pendant 5 minutes, et subnormale pendant le reste de l'expérience.

5. Lapin N° 61. Poids : 2308 grammes. (12—2—1896.)

Injection de 20 centigrammes.

*Fréquence.* — Avant l'injection : 145 en 30 secondes. Ralentissement graduel pendant l'injection et après, persistant jusqu'à la mort qui survient 2 à 3 minutes après l'administration de la stypticine.

*Amplitude.* — Augmente au début de l'injection, diminue pendant quelques secondes, dépasse ensuite notablement la normale; à partir de ce moment elle diminue graduellement jusqu'à la mort.

*Pression.* — A) ***minimale :*** à part une élévation de quelques secondes pendant l'injection, elle baisse graduellement jusqu'à la mort.

B) ***maximale :*** se maintient normale pendant les premières secondes de l'injection, baisse ensuite graduellement jusqu'à la mort.

*Conclusions.* — Ces quelques tracés obtenus après injections intraveineuses de stypticine nous montrent que les modifications de la circulation sont plus marquées et plus persistantes chez le chien que chez le lapin. Nous les résumons séparément pour chacune de ces espèces animales.

Chez le chien : 1° Les doses faibles (1 à 2 centigrammes par kilo) déterminent une accélération de la fréquence cardiaque, dès le début de l'injection. Des doses plus fortes (3—6 centigrammes par kilo) provoquent encore une accélération persistante, mais celle-ci est précédée d'un ralentissement de quelques minutes, survenant immédiatement après l'injection. Des doses mortelles (6 centigrammes et plus par kilo) déterminent un ralentissement qui progresse jusqu'à la mort.

2° L'amplitude augmente considérablement et atteint son maximum pendant l'injection ou pendant les premières secondes qui suivent; puis elle retourne rapidement à la normale et devient même subnormale pendant 5 à 15 minutes; survient une 3e période, pendant laquelle s'établit un accroissement progressif qui atteint son maximum, en moyenne après 30 à 80 minutes. L'amplitude est alors 1,5 à 2,5 fois plus grande que la normale; elle ne diminue que très lentement et ne revient à la normale qu'après plusieurs heures, d'après la dose.

3° *a)* Par suite de l'augmentation notable de l'amplitude pendant l'injection et immédiatement après, il existe alors un abaissement très marqué de la pression minimale. A cet abaissement, succède un relèvement rapide, la pression minimale devenant normale et surnormale pendant quelques minutes à une heure. Elle redescend ensuite à la normale et devient même subnormale pendant la période d'augmentation des ondes pulsatiles.

*b)* La pression maximale s'élève dès le début de l'injection et persiste pendant deux heures, et plus encore. Cependant, quand la diminution de l'amplitude est trop considérable après l'injection, il survient un abaissement passager.

Chez le lapin : 1° La stypticine détermine d'abord un ralentissement du cœur, surtout marqué immédiatement après l'injection. Pour les doses faibles (1 à 3 centigrammes par kilo) ce ralentissement fait place à la normale ; pour les doses fortes (4 à 6 centigrammes par kilo) il survient une accélération après 20 à 35 minutes. Des doses mortelles (10 centigr. par kilo) ralentissent graduellement le cœur jusqu'à la mort.

2° L'augmentation de l'amplitude est surtout marquée les premières minutes qui suivent l'administration de la stypticine. Tout en diminuant, elle persiste parfois; d'autres fois, l'amplitude revient rapidement à la normale et peut même devenir légèrement subnormale pendant quelques minutes.

3° *a)* Après un abaissement passager de quelques minutes, la pression minimale s'élève au-dessus de la normale pendant 5 à 20 minutes; elle revient ensuite à la hauteur initiale et devient même souvent subnormale.

Des doses mortelles provoquent un abaissement graduel jusqu'à la mort.

*b)* La pression maximale baisse d'une façon constante les premières minutes qui suivent l'injection. A cet abaissement, succède ordinairement une élévation passagère, mais bientôt la pression redevient normale, parfois subnormale.

## II. Injections hypodermiques de stypticine.

*Chien.* — 1. Chien. Poids : 3160 grammes. (3—4—1896.)

Injection de 5 centigrammes de stypticine.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant l'injection : | | | | 62 | en | 30 | secondes. |
| 5 minutes après l'injection : | | | | 49 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 54 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 56 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 61 | » | » | » |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 30 minutes après l'injection : | | | | 56 en 30 secondes. | | | |
| 40 | » | » | » | 67 | » | » | » |
| 50 | » | » | » | 52 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | 74 | » | » | » |
| 75 | » | » | » | 75 | » | » | » |
| 90 | » | » | » | 86 | » | » | » |
| 105 | » | » | » | 86 | » | » | » |
| 125 | » | » | » | 87 | » | » | » |
| 145 | » | » | » | 90 | » | » | » |
| 165 | » | » | » | 84 | » | » | » |

*Amplitude.* — Ne se modifie guère les 10 premières minutes qui suivent l'injection; à partir de ce moment, elle augmente graduellement, en ne tenant pas compte d'une légère diminution survenue environ 50 minutes après l'injection; elle atteint son maximum au bout de 105 minutes; elle diminue ensuite progressivement, tout en restant encore surnormale au moment où nous suspendons l'expérience.

*Pression.* — A) ***minimale :*** ne varie pas les 10 premières minutes, devient ensuite légèrement surnormale jusqu'à la fin, où elle retombe sensiblement à la hauteur initiale.

B) ***maximale :*** subit les mêmes modifications, mais plus marquées que la pression minimale; à la fin de l'expérience elle est encore sensiblement surnormale.

2. Chien. Poids : 3150 grammes. (2—4—1896.)

Injection de 15 centigrammes de stypticine.

*Fréquence.* — Avant l'injection : 51 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après l'injection : | | | | 74 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 94 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 89 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 73 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | 68 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 80 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | 70 | » | » | » |
| 50 | » | » | » | 69 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | 76 | » | » | » |
| 75 | » | » | » | 83 | » | » | » |
| 90 | » | » | » | 93 | » | » | » |
| 105 | » | » | » | 80 | » | » | » |
| 120 | » | » | » | 82 | » | » | » |
| 155 | » | » | » | 85 | » | » | » |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 170 minutes | après | l'injection : | 81 | en | 30 secondes. |
| 190 | » | » | » | 87 | » | » | » |
| 205 | » | » | » | 77 | » | » | » |
| 210 | » | » | » | 77 | » | » | » |

*Amplitude.* — A déjà notablement augmenté 5 à 10 minutes après l'injection; elle diminue ensuite légèrement pendant 40 minutes tout en restant surnormale; puis elle s'accroît de nouveau pour atteindre son maximum au bout de 90 minutes. A partir de ce moment, l'amplitude diminue peu à peu, et 210 minutes après l'administration de la stypticine elle est redevenue normale.

*Pression.* — A) ***minimale :*** dépasse légèrement la normale dès les cinq premières minutes qui suivent l'injection; elle revient ensuite à la normale pendant 150 minutes pour la dépasser jusqu'à la fin de l'expérience.

B) ***maximale :*** s'élève notablement dès le début de l'expérience; cette élévation persiste jusqu'à la fin, mais elle est d'autant plus marquée que l'amplitude est plus grande.

3. Chien. Poids : 4200 grammes. (1—4—1896.)

Injection de 35 centigrammes. (Voir planche I.)

*Fréquence.* — Avant l'injection : 45 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes | après | l'injection : | | 60 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 57 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 56 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 65 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 63 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | 53 | » | » | » |
| 50 | » | » | » | 51 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | 62 | » | » | » |
| 75 | » | » | » | 61 | » | » | » |
| 90 | » | » | » | 67 | » | » | » |
| 105 | » | » | » | 77 | » | » | » |
| 120 | » | » | » | 61 | » | » | » |
| 135 | » | » | » | 75 | » | » | » |
| 150 | » | » | » | 71 | » | » | » |
| 175 | » | » | » | 72 | » | » | » |
| 190 | » | » | » | 66 | » | » | » |
| 210 | » | » | » | 74 | » | » | » |
| 220 | » | » | » | 71 | » | » | » |
| 250 | » | » | » | 69 | » | » | » |
| 265 | » | » | » | 80 | » | » | » |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 280 | minutes | après | l'injection : | 70 | en | 30 | secondes. |
| 310 | » | » | » | 74 | » | » | » |
| 320 | » | » | » | 85 | » | » | » |
| 335 | » | » | » | 75 | » | » | » |

*Amplitude.* — A déjà notablement augmenté 5 minutes après l'injection ; elle devient de plus en plus grande, à part une légère tendance vers le retour à la normale de 30 à 40 minutes après l'administration de la stypticine, pour atteindre le maximum au bout de 105 minutes. L'amplitude diminue ensuite graduellement, mais très lentement jusqu'à la fin de l'expérience, où elle dépasse encore d'une façon très sensible l'étendue initiale.

*Pression.* — A) *minimale :* dépasse légèrement la normale pendant 15 minutes, descend à la normale pendant quelques minutes et devient de plus en plus infranormale à mesure que l'amplitude augmente; elle se relève avec la diminution de l'amplitude ; à la fin de l'expérience elle est encore sensiblement subnormale.

B) *maximale :* dès les 5 premières minutes qui suivent l'injection, elle s'est élevée d'une façon très appréciable au dessus de la normale. Cette élévation sensible persiste pendant des heures. Au bout de 4 heures 25 minutes, elle redevient normale et baisse ensuite graduellement jusqu'à la fin de l'expérience.

4. Chien. Poids : 3150 grammes. (31—3—1896.)

Injection de 45 centigrammes de stypticine.

*Fréquence.* — Avant l'injection : 74 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | minutes | après | l'injection : | 116 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 116 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 109 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 93 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 107 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | 105 | » | » | » |
| 55 | » | » | » | 87 | » | » | » |
| 70 | » | » | » | 79 | » | » | » |
| 85 | » | » | » | 80 | » | » | » |
| 100 | » | » | » | 91 | » | » | » |
| 115 | » | » | » | 89 | » | » | » |
| 140 | » | » | » | 66 | » | » | » |
| 155 | » | » | » | 78 | » | » | » |

*Amplitude.* — A déjà notablement augmenté 5 minutes après l'injection ; cette augmentation s'accuse de plus en plus, abstraction faite d'une faible diminution survenue 15 à 20 minutes après l'administration de stypticine,

et atteint son maximum au bout de 85 minutes. Les excursions diminuent ensuite graduellement jusqu'à la fin de l'expérience, où il se produit une nouvelle augmentation ; à ce moment, l'animal est très excité.

Pendant toute la durée de l'observation, l'amplitude dépasse sensiblement la valeur initiale.

*Pression.* — A) *minimale :* a déjà considérablement baissé 5 minutes après l'injection ; cet abaissement devient de plus en plus grand à mesure que l'amplitude augmente. La pression minimale se relève quand l'amplitude diminue, mais à la fin de l'expérience elle est encore subnormale.

B) *maximale :* s'élève dès les 5 premières minutes ; cette élévation s'accuse davantage à mesure que l'amplitude augmente et disparaît peu à peu avec la diminution des excursions des ondes pulsatiles. Au bout de 140 minutes, la pression est redevenue normale.

5. Chien. Poids : 4515 grammes. (30—3—1896.)

Injection de 50 centigrammes de stypticine.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant l'injection : | | | | 85 en 30 secondes. | | | |
| 5 minutes après l'injection : | | | | 92 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 99 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 100 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 102 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 98 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | 98 | » | » | » |
| 50 | » | » | » | 92 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | 92 | » | » | » |
| 75 | » | » | » | 87 | » | » | » |
| 90 | » | » | » | 85 | » | » | » |
| 105 | » | » | » | 89 | » | » | » |
| 120 | » | » | » | 94 | » | » | » |
| 135 | » | » | » | 86 | » | » | » |
| 145 | » | » | » | 91 | » | » | » |

*Amplitude.* — 5 minutes après l'injection, elle a déjà dépassé la normale ; cette augmentation sans changement très sensible persiste pendant 100 minutes environ ; à partir de ce moment, l'amplitude augmente graduellement jusqu'à la fin de l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale :* reste sensiblement normale pendant 20 à 25 minutes ; elle tombe ensuite légèrement en dessous de la normale ; cet abaissement devient de plus en plus accusé au fur et à mesure que l'amplitude augmente.

B) *maximale :* monte dès la fin de l'injection ; cette légère élévation

persiste pendant une heure environ. La pression revient alors à la normale pendant 30 minutes pour la dépasser de nouveau jusqu'à la fin à cause de l'augmentation de l'amplitude.

6. Chien. Poids : 5000 grammes. (30—3—1896.)

Injection de 80 centigrammes de stypticine.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — | Avant l'injection : | | | 58 | en | 30 | secondes. |
| | 5 minutes après l'injection : | | | 84 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 92 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 58 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 62 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | 64 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 30 | » | » | » |

La mort survient 35 minutes après l'injection.

*Amplitude.* — Varie fort d'un moment à un autre par suite de l'agitation fréquente de l'animal; cependant on constate aisément que l'amplitude augmente d'une façon persistante dès la fin de l'injection. 8 à 10 minutes avant la mort, elle augmente rapidement, en moins d'une minute, d'une façon très marquée et diminue ensuite, avec quelques légères oscillations, graduellement jusqu'à la mort.

*Presssion.* — A) *minimale :* ne tenant pas compte des moments d'agitation, elle dépasse la normale pendant les 20 minutes qui suivent l'injection; elle redevient ensuite normale pendant 3 à 4 minutes, puis baisse graduellement jusqu'à la mort.

B) *maximale* : s'élève au-dessus de la normale jusque 3 à 4 minutes avant la mort; à partir de ce moment, elle baisse rapidement.

*Lapin.* — 1. Lapin N° 66. Poids : 2250 grammes. (31—3—1896.)

Injection de 50 centigrammes de stypticine.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — | Avant l'injection : | | | 144 | en | 30 | secondes. |
| | 5 minutes après l'injection : | | | 153 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 145 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 145 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 153 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | 130 | » | » | » |
| 45 | » | » | » | 147 | » | » | » |
| 55 | » | » | » | 150 | » | » | » |
| 65 | » | » | » | 156 | » | » | » |
| 75 | » | » | » | 162 | » | » | » |
| 85 | » | » | » | 156 | » | » | » |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 95 | minutes | après | l'injection : | 158 | en | 30 | secondes. |
| 110 | » | » | » | 149 | » | » | » |
| 125 | » | » | » | 150 | » | » | » |
| 140 | » | » | » | 151 | » | » | » |
| 155 | » | » | » | 151 | » | » | » |

*Amplitude.* — A part une diminution légère 15 à 20 minutes après l'injection, elle reste sensiblement invariable pendant 45 minutes; elle augmente ensuite et dépasse la normale pendant 40 minutes; redevient normale et légèrement subnormale jusqu'à la fin de l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale :* dépasse déjà légèrement la normale 5 minutes après l'injection; cette élévation, qui s'accuse encore davantage, se maintient environ 55 minutes. La pression baisse ensuite graduellement jusqu'à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* dépasse la normale déjà 5 minutes après l'injection; cette élévation devenant plus grande, persiste environ 100 minutes. La pression redevient ensuite normale et subnormale jusqu'à la fin de l'expérience.

2. Lapin N° 99. Poids : 2300 grammes. (30—3—1896).

Injection de 60 centigrammes de stypticine.

*Fréquence.* — Avant l'injection : 121 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | minutes | après | l'injection : | 126 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 114 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 112 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 115 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 107 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | 113 | » | » | » |
| 50 | » | » | » | 107 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | 115 | » | » | » |
| 75 | » | » | » | 101 | » | » | » |
| 90 | » | » | » | 90 | » | » | » |
| 105 | » | » | » | 99 | » | » | » |

*Amplitude.* — Reste normale pendant les 10 premières minutes qui suivent l'injection; elle augmente ensuite, reste surnormale pendant 30 minutes environ et redevient sensiblement normale pendant tout le reste de l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale :* 3 à 4 minutes après l'injection elle s'élève très légèrement et se maintient surnormale pendant 5 minutes environ; elle revient ensuite à la hauteur initiale. Vers le milieu de l'expérience, elle baisse d'une façon peu appréciable et se maintient en dessous de la normale jusqu'à la fin.

B) *maximale :* subit les mêmes modifications que la pression minimale; mais à cause de l'augmentation de l'amplitude elle se maintient surnormale pendant 35 à 40 minutes.

3. Lapin N° 67. Poids : 2650 grammes. (2—4—1896).

Injection de 80 centigrammes de stypticine.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant l'injection : | | | | 139 en 30 secondes. | | | |
| 5 minutes après l'injection : | | | | 144 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 135 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 130 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 123 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 119 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | 114 | » | » | » |
| 50 | » | » | » | 118 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | 117 | » | » | » |
| 75 | » | » | » | 118 | » | » | » |
| 90 | » | » | » | 114 | » | » | » |
| 105 | » | » | » | 111 | » | » | » |
| 120 | » | » | » | 112 | » | » | » |
| 165 | » | » | » | 106 | » | » | » |
| 180 | » | » | » | 107 | » | » | » |

*Amplitude.* — Diminue par l'administration de la stypticine; cette diminution est persistante.

*Pression.* — A) *minimale :* reste normale pendant une heure; elle baisse ensuite progressivement jusqu'à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* baisse d'une façon très peu appréciable pendant une heure; elle décroît ensuite graduellement jusqu'à la fin.

*Conclusions.* — Comme il était à prévoir, à doses égales et même plus fortes, les injections hypodermiques ne produisent pas des modifications aussi intenses et aussi rapides que les injections intraveineuses; nous voyons cependant survenir manifestement la même série de changements mais dans un espace de temps plus prolongé.

Ainsi, chez le chien :

1. Des doses de 1 centigramme par kilo produisent déjà des modifications appréciables et durables. Cette action se manifeste dès les cinq premières minutes qui suivent l'injection.

2. La fréquence des battements cardiaques augmente d'une façon constante et persistante; toutefois, pour des doses faibles (voir p. 40), l'accélération est précédée d'un ralentissement passager. Des doses

mortelles ne ralentissent le cœur que quelques minutes avant la mort.

3. L'amplitude des ondes pulsatiles subit des modifications très sensibles : elle augmente d'une façon constante, et d'autant plus rapidement que les doses sont plus fortes. Les variations de l'amplitude suivent une marche caractéristique. A partir de 15 centigrammes, il se produit dès les premières minutes une augmentation très sensible (action stimulante sur l'appareil circulatoire?) A cette première augmentation succède une diminution très appréciable de l'amplitude, mais celle-ci reste toutefois supérieure à la normale. Au bout de quelques minutes (15 à 50) les pulsations présentent de nouveau un accroissement progressif qui est plus marqué et plus persistant (action tonique sur l'appareil circulatoire ?) Après avoir atteint un maximum (85 à 105 minutes après l'injection) l'amplitude diminue graduellement et lentement, car elle ne revient à la normale que 4 à 5 heures, et plus encore, après l'injection.

4. *a)* Les doses faibles (5 à 35 centigr.) élèvent légèrement la pression minimale d'une façon persistante.

Des doses plus fortes déterminent, par suite de l'augmentation si sensible de l'amplitude, un abaissement de cette pression, parfois après une élévation passagère.

*b)* Grâce à cette augmentation de l'étendue des ondes pulsatiles, la stypticine provoque, à toutes les doses mortelles, pendant plusieurs heures, une élévation de la pression maximale. Même les doses mortelles ne déterminent l'abaissement de cette pression que 2 à 3 minutes avant la mort.

Chez le lapin :

De même qu'après les injections intraveineuses de stypticine, les modifications circulatoires après injections hypodermiques sont moins marquées chez le lapin que chez le chien. Les faibles doses ne produisent aucun changement. Des doses fortes seules (à partir de 50 centigrammes) déterminent des effets sensibles; encore ceux-ci sont-ils plus lents à se manifester. En résumé, ces modifications consistent en :

1. Diminution de la fréquence des mouvements cardiaques et cela d'autant plus rapidement que les doses sont plus fortes. Des doses de 50 centigrammes peuvent toutefois déterminer une accélération analogue à celle qui survient chez le chien.

2. Augmentation de l'amplitude qui est de même ordre que celle survenant chez le chien; cependant elle est beaucoup moins sensible, se produit plus lentement et est moins persistante. Déjà au bout d'une heure, elle peut disparaître et faire place à une diminution.

3. *a)* La pression minimale s'élève pendant quelques minutes (5 à 55)

après l'injection, revient bientôt à la hauteur initiale et tombe ensuite en dessous de la normale.

*b)* Par suite de l'augmentation de l'amplitude, la pression maximale dépasse pendant un temps plus long la pression normale que la pression minimale; elle revient cependant à la hauteur initiale au bout d'un temps assez variable (35 à 100 minutes) et devient subnormale ensuite.

Que le chlorhydrate de cotarnine exerce une action sur l'appareil circulatoire, c'est un fait manifestement prouvé par les tracés précédents. Quel est ou quels sont les tissus sur lesquels il agit pour amener ces modifications? Nous allons chercher à répondre à cette question par exclusion, c'est-à-dire en éliminant successivement les différents facteurs qui pourraient intervenir.

### Chloral et Stypticine.

Il est établi que l'hydrate de chloral paralyse le centre vasomoteur de la moelle allongée(1). Voyons si la paralysie de ce centre altère l'action de la stypticine. A cet effet, nous avons plongé des chiens et des lapins dans un profond sommeil chloralique et injecté ensuite dans une veine jugulaire des solutions de cette substance.

Chien. Poids : 4550 grammes. (14—2—1896.)

Après des injections intraveineuses successives de 40, 30, 20 centigr. de chloral, nous faisons, 10 minutes après l'administration de la dernière dose, une injection de 5 centigrammes de stypticine dans la veine jugulaire.

*Fréquence.* — Avant la 1re injection de chloral : 80 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes avant l'injection de stypticine : | | | | 83 | » | » | » |
| Immédiatement | » | » | » | » | 86 | » | » | » |
| 5 minutes après | » | » | » | 103 | » | » | » |
| 10 » » | » | » | » | 100 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente par le chloral et surtout la 1re minute qui suit l'injection de stypticine; elle diminue ensuite graduellement et se maintient légèrement surnormale.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse par le chloral et surtout la 1re minute qui suit l'injection de stypticine; elle se relève ensuite, dépasse celle qui existait avant l'administration de la stypticine, mais se maintient notablement en dessous de la normale.

(1) Falk : *Virchow's Arch.*, Bd. 190, S. 430.

b) *maximale :* s'élève très légèrement par la stypticine, mais reste de beaucoup inférieure à la pression initiale.

15 minutes après l'administration de 5 centigrammes de stypticine, nous faisons une injection intraveineuse de 40 centigrammes de chloral, et 4 minutes plus tard nous administrons par la même voie 10 centigrammes de stypticine.

*Fréquence.* — Avant la 2de injection de stypticine : 91 en 30 secondes.

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après | » | » | » | » | » | 95 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | » | » | 93 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | » | » | 92 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | » | » | 95 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | » | » | 93 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente pendant 2 à 3 minutes par l'injection de stypticine; elle revient ensuite à celle qui existait avant l'injection et qui est légèrement surnormale.

*Pression.* — a) *minimale :* baisse fort par la stypticine, revient pendant quelques secondes, 2 à 3 minutes après l'injection, à la hauteur qui existait avant la 2e administration de stypticine; puis redescend de nouveau jusqu'à la fin.

b) *maximale :* s'élève très légèrement pendant l'injection. Dès les premières secondes qui suivent, elle redevient normale et légèrement subnormale pendant le reste de l'expérience.

25 minutes après la 2e injection de stypticine, nous injectons encore 25 centigrammes de chloral et une 1/2 minute plus tard 15 centigrammes de stypticine.

*Fréquence.* — Avant l'injection de stypticine : 90 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après l'inject. de stypticine : | | | | 81 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 80 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 81 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 81 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente pendant les premières minutes qui suivent l'injection de stypticine.

*Pression.* — a) *minimale* et b) *maximale :* diminuent, sauf immédiatement après l'injection, où la pression maximale est sensiblement restée égale à celle qui existait avant la 3e administration de stypticine. Vers la fin, les 2 pressions sont redevenues sensiblement comparables à celles qui existaient avant la dernière dose.

Lapin N° 69. Poids : 2767 grammes. (13—2—1896.)

2 à 3 minutes après une injection intraveineuse de 30 centigrammes de chloral, nous injectons dans la veine jugulaire 5 centigr. de stypticine.

| | | |
|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant l'injection de chloral : | 139 en 30 secondes. | |
| » » de stypticine : | 131 » » » | |
| 5 minutes après l'inject. de stypticine : | 78 » » » | |
| 10 » » » » | 127 » » » | |
| 15 » » » » | 119 » » » | |
| 20 » » » » | 118 » » » | |
| 25 » » » » | 124 » » » | |
| 30 » » » » | 126 » » » | |

*Amplitude.* — Le chloral détermine, après une diminution passagère de l'amplitude, une augmentation de celle-ci pendant une minute, à la fin de laquelle il se produit une nouvelle diminution persistant jusqu'à l'injection de la stypticine. Celle-ci diminue encore l'amplitude au début de l'injection; mais bientôt il survient une augmentation graduelle. Dès les premières secondes qui suivent l'administration de la stypticine, l'amplitude est surnormale, elle s'y maintient pendant 10 minutes et devient normale ensuite.

*Pression.* — A) *minimale :* le chloral abaisse la pression après une élévation passagère. La stypticine provoque un abaissement encore plus marqué; puis la pression se relève très lentement, atteint au bout de 20 minutes la hauteur qui existait avant l'administration de la stypticine, mais reste subnormale pendant toute l'expérience.

B) *maximale :* subit au début les mêmes modifications que la pression minimale. 2 à 3 minutes après l'injection de stypticine, elle est redevenue égale à celle qui existait avant cette administration, la dépasse même légèrement pendant 2 à 3 minutes, mais n'atteint pas la pression initiale.

30 à 35 minutes après l'injection de 5 centigrammes de stypticine, nous pratiquons une nouvelle injection intraveineuse de 30 centigrammes de chloral, et 2 à 3 minutes plus tard nous administrons par la même voie 15 centigrammes de stypticine.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant l'injection de chloral : | 128 en 30 secondes. |
| » » de stypticine : | 121 » » » |
| Immédiatem. après » » | 70 » » » |

Puis ralentissement progressif jusqu'à la mort, qui survient 1 à 2 minutes après l'injection de stypticine.

*Amplitude.* — Le chloral produit une augmentation de l'amplitude;

celle-ci retourne graduellement vers la normale. La stypticine détermine une augmentation plus grande, mais l'amplitude diminue ensuite graduellement jusqu'à la mort.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse dès le début de l'injection de chloral jusqu'à la mort; cet abaissement n'est pas interrompu par l'injection de stypticine.

B) *maximale :* il en est de même de la pression maximale, qui se relève toutefois légèrement pendant l'injection de la stypticine par suite de l'augmentation de l'amplitude.

Ces deux expériences nous montrent, qu'après l'administration de chloral, il survient des modifications circulatoires identiques à celles déterminées par les injections intraveineuses de la stypticine seule : diminution de la fréquence chez le lapin, accélération chez le chien; augmentation de l'amplitude; abaissement prolongé de la pression minimale chez le lapin, plus passager chez le chien; abaissement momentané de la pression maximale, suivi d'une élévation transitoire ou persistante.

La paralysie du centre vasomoteur de la moelle allongée ne modifie donc en aucune façon l'action de la stypticine; nous sommes ainsi amené à conclure que les modifications ne dépendent pas de ce centre.

### Action de la stypticine sur le système inhibitif du cœur.

Pour étudier l'influence que la stypticine pourrait exercer sur le système inhibitif du cœur, nous avons institué des expériences dans lesquelles nous avons tantôt sectionné les nerfs vagues pour éliminer l'action de leurs centres, tantôt paralysé les centres d'arrêt intracardiaques par le sulfate d'atropine.

Chien. Poids : 4635 grammes. (29—2—1896).

5 minutes après la section des deux vagues, nous faisons une injection intraveineuse de 10 centigrammes de stypticine.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la section du vague droit : | | | | | 64 en 30 secondes. | |
| Immédiatement après | » | » | » | » | 110 » » » | |
| Avant | » | » | » | gauche | 62 » » » | |
| Immédiatement après | » | » | » | » | 106 » » » | |
| Avant l'injection de stypticine : | | | | | 94 » » » | |
| 5 minutes après l'injection de stypticine : | | | | | 103 » » » | |
| 10 | » | » | » | » | » | 95 » » » |
| 15 | » | » | » | » | » | 97 » » » |
| 20 | » | » | » | » | » | 100 » » » |

| | |
|---|---|
| 25 minutes après l'injection de stypticine : | 97 en 30 secondes. |
| 30 » » » » » | 93 » » » |

*Amplitude.* — Augmente pendant et après l'injection de stypticine; cette augmentation est persistante.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse pendant l'injection; cet abaissement se maintient jusqu'à la nouvelle injection.

B) *maximale :* baisse pendant l'injection et les dix premières minutes qui suivent; elle s'élève alors à la normale et la dépasse ensuite légèrement.

30 minutes après l'administration de 10 centigrammes de stypticine, nous pratiquons une nouvelle injection de 5 centigrammes.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la 2de injection : | 93 en 30 secondes. |
| 5 minutes après » » » | 95 » » » |
| 10 » » » » » | 90 » » » |
| 15 » » » » » | 90 » » » |
| 20 » » » » » | 94 » » » |

*Amplitude.* — Augmente pendant l'injection; cette augmentation se maintient jusqu'à la fin de l'expérience tout en diminuant.

*Pression.* — Les pressions minimale et maximale baissent pendant l'injection; elles se relèvent ensuite lentement, mais à la fin de l'expérience elles sont encore inférieures à celles qui existaient avant la dernière injection.

Lapin N° 78. Poids 2280 grammes. (27—2—1896).

5 minutes après la section des deux vagues nous faisons une injection intraveineuse de 5 centigrammes de stypticine.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la section du vague droit : | 128 en 30 secondes. |
| » » » » » gauche : | 116 » » » |
| Avant l'injection de stypticine : | 118 » » » |
| 1 minute après l'injection de stypticine : | 112 » » » |
| 5 minutes » » » » | 121 » » » |
| 10 » » » » » | 99 » » » |
| 15 » » » » » | 100 » » » |
| 20 » » » » » | 115 » » » |
| 25 » » » » » | 118 » » » |
| 30 » » » » » | 136 » » » |

*Amplitude.* — Diminue au début de l'administration de stypticine; vers la fin de l'injection et les premières secondes qui suivent elle devient normale et très légèrement surnormale; elle redevient ensuite inférieure à l'amplitude initiale pendant toute l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale :* la section des vagues l'élève légèrement. La stypticine provoque également une élévation sensible qui se maintient 15 à 20 minutes; la pression devient ensuite normale et subnormale.

B) *maximale :* cf. la minimale; mais à cause de la diminution de l'amplitude elle redevient déjà normale 10 minutes après l'injection.

35 minutes après l'administration de 5 centigrammes de stypticine, nous pratiquons une nouvelle injection intraveineuse de 8 centigrammes.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la 2de injection : | 122 en 3o secondes. |
| 2 minutes après la 2de injection : | 65 » » » |
| 5 » » » » » | 99 » » » |
| 10 » » » » » | 110 » » » |
| 15 » » » » » | 107 » » » |
| 20 » » » » » | 115 » » » |

*Amplitude.* — Diminue pendant l'injection; vers la fin de celle-ci elle augmente et dépasse sensiblement la normale, surtout les premières minutes qui suivent l'injection. Au bout de 15 à 20 minutes, elle est redevenue normale.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse pendant l'injection et les 5 minutes qui suivent; elle devient ensuite légèrement surnormale pendant le reste de l'expérience.

B) *maximale :* cf. la minimale.

Lapin No 81. Poids : 2400 grammes. (29—2—1896.)

Quelques minutes après la section des vagues nous injectons dans une jugulaire 5 centigrammes de stypticine.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la section du vague droit : | 170 en 3o secondes. |
| » » » » » gauche : | 161 » » » |
| Avant l'injection de stypticine : | 161 » » » |
| 5 minutes après l'injection de stypticine : | 137 » » » |
| 10 » » » » » | 136 » » » |
| 15 » » » » » | 143 » » » |
| 20 » » » » » | 149 » » » |
| 25 » » » » » | 152 » » » |
| 3o » » » » » | 154 » » » |

*Amplitude.* — Diminue par la section des vagues; augmente très légèrement pendant l'injection et revient ensuite sensiblement à l'amplitude qui existait avant l'injection.

*Pression.* — A) *minimale :* s'élève très légèrement par la section des vagues; s'abaisse très peu pendant l'injection, mais redevient normale et

surnormale dès les premières secondes qui suivent l'administration de stypticine; 10 minutes plus tard la pression redevient normale pendant quelques minutes et tombe très légèrement en dessous de la normale pendant le reste de l'expérience.

B) ***maximale :*** s'abaisse par la section des vagues. L'injection détermine encore une faible chute, mais la pression dépasse la normale dès les premières secondes qui suivent. A partir de ce moment la pression maximale subit des modifications analogues à celles de la pression minimale.

30 minutes après l'injection des 5 centigrammes de stypticine, nous pratiquons une nouvelle injection de 2,5 centigrammes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant l'injection : | | | | 154 | en | 30 | secondes. |
| 5 minutes après l'injection : | | | | 142 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 144 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 145 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 153 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | 157 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 153 | » | » | » |

*Amplitude.* — Diminue au début de l'injection, augmente et devient sensiblement surnormale à la fin de l'injection et la première minute qui suit; elle redevient ensuite normale et légèrement surnormale à la fin de l'expérience.

*Pression.* — Les pressions minimale et maximale baissent pendant l'injection et la première minute qui suit; s'élèvent ensuite à la normale et la dépassent pendant quelques minutes; reviennent à la normale et tombent légèrement en dessous pendant le reste de l'expérience.

Nous avons aussi institué une expérience sur un chien de 4000 gr. chez lequel nous avons sectionné le vague droit. Nous avons ensuite excité le bout périphérique par le courant de l'appareil à induction de DU BOIS-REYMOND, avant et après injection de stypticine :

Avant l'injection, une excitation, la bobine secondaire se trouvant à une distance de 12 centimètres, arrête le cœur.

La première minute après une injection intraveineuse de 10 centigrammes de stypticine, une excitation, les bobines étant à 15 centimètres de distance, ralentit fort les battements cardiaques et 3 minutes plus tard, une excitation, les bobines étant à 14 centimètres, parvient à arrêter le cœur.

45 minutes plus tard, une excitation, les bobines étant à 15 centimètres, ralentit le cœur. Après une nouvelle injection de 10 centigr. de stypticine, la même excitation produit sensiblement le même ralentissement.

Chien. Poids : 4500 grammes. (4—3—1896.)

Quelques secondes après une injection intraveineuse de 2 milligr. de sulfate d'atropine, nous injectons dans une veine jugulaire 10 centigr. de stypticine. Une heure plus tard nous pratiquons encore 2 injections successives de 2 milligrammes de sulfate d'atropine et 2 minutes après une injection de 15 centigrammes de stypticine.

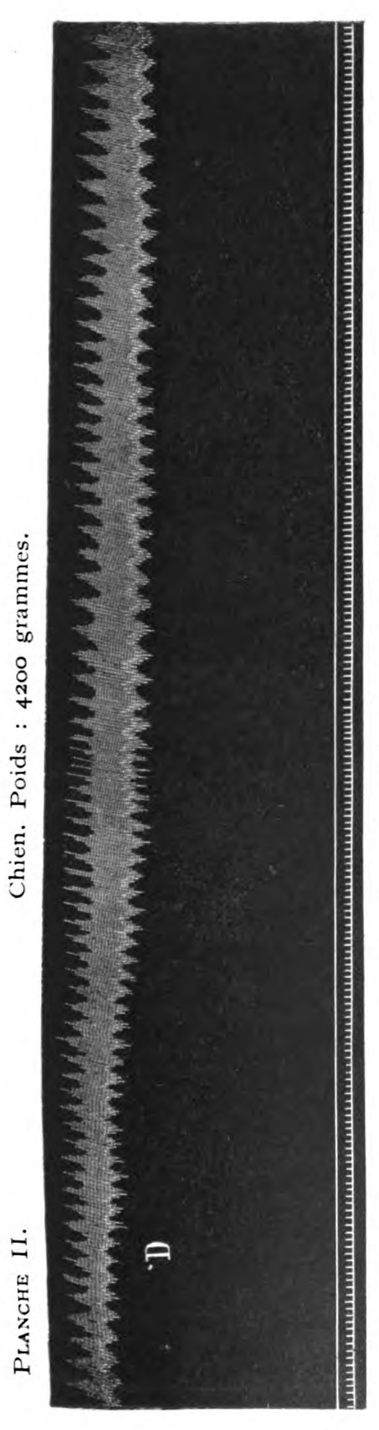
| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la 1e injection d'atropine : | 38 en 30 secondes. |
| Immédiatement après » » | 101 » » » |
| (Avant l'injection de 10 centigr. de stypticine.) | |
| 5 minutes après l'injection de stypticine : | 84 en 30 secondes. |
| 10 » » » » | 87 » » » |
| 15 » » » » | 88 » » » |
| 20 » » » » | 87 » » » |
| 25 » » » » | 87 » » » |
| 30 » » » » | 89 » » » |
| 35 » » » » | 88 » » » |
| 40 » » » » | 88 » » » |
| 45 » » » » | 95 » » » |
| 50 » » » » | 88 » » » |
| 55 » » » » | 92 » » » |
| 60 » » » » | 92 » » » |
| (Avant la 2e injection d'atropine.) | |
| 5 minutes après la 2e injection d'atropine : | 89 » » » |
| (Avant la 3e injection d'atropine.) | |
| Une 1/2 minute après la 3e injection d'atropine : | 93 » » » |
| (Avant l'injection de 15 centigr. de stypticine.) | |
| 5 minutes après l'inj. de 15 centigr. de stypticine : | 84 » » » |
| 10 » » » » » | 81 » » » |
| 15 » » » » » | 92 » » » |
| 20 » » » » » | 81 » » » |

*Amplitude.* — La 1re dose de 10 centigrammes de stypticine détermine une augmentation persistante de l'amplitude surtout marquée à la fin de l'injection et la première minute qui suit.

La 2e dose de 15 centigrammes provoque une augmentation de l'amplitude encore plus marquée, mais moins persistante.

*Pression.* — A) *minimale :* l'administration de 2 milligrammes de sulfate d'atropine provoque une élévation. L'injection de 10 centigrammes de stypticine détermine pendant l'injection et la 1re minute qui suit, un abaissement; la pression remonte ensuite, dépasse pendant 2 à 3 minutes

Planche II. Chien. Poids : 4200 grammes.



Début. Injection intraveineuse de 45 centigrammes de stypticine.

5 min. après l'inj. 55 min. 1 h. 45 min. 2 h. 15 min. 2 h. 30 min. 3 h. 15 min. 3 h. 35 min.

celle qui existait avant l'injection de stypticine, puis reste sensiblement au niveau de la hauteur initiale. La dose de 15 centigrammes provoque un abaissement persistant de la pression minimale, surtout marqué à la fin de l'injection et les 2 premières minutes qui suivent.

b) *maximale :* la première injection du sulfate d'atropine élève la pression, qui monte encore légèrement par l'administration des 10 centigr. de stypticine. Cette élévation est persistante à cause de l'augmentation de l'amplitude.

La dose de 15 centigrammes de stypticine provoque pendant l'injection et les premières minutes qui suivent, une élévation marquée. Dès la 3e minute après l'injection, la pression est redevenue normale et devient bientôt légèrement subnormale.

Pendant toute l'expérience, l'animal a été sous l'influence de l'atropine ; des excitations des extrémités périphériques des nerfs vagues avec le courant induit de l'appareil de du Bois-Reymond, les bobines étant même superposées, ne parviennent pas à arrêter le cœur ni même à ralentir d'une façon sensible les battements cardiaques.

Pas plus qu'après l'administration de chloral, la section des vagues ou la paralysie des centres inhibitifs intracardiaques par l'atropine ne modifient l'action de la stypticine sur la circulation. Les divers changements qui concernent la fréquence, l'amplitude et la pression se reproduisent. Ce n'est donc pas par l'intermédiaire du vague (centre ou bout périphérique) que le médicament exerce son action.

## Curare. — Respiration artificielle. — Stypticine.

Le centre vasomoteur et le vague n'intervenant pas dans l'action de la stypticine, nous avons déterminé le rôle joué par les modifications respiratoires dans les modifications circulatoires. A cet effet, nous avons curarisé des animaux, institué la respiration artificielle et injecté ensuite de la stypticine.

Chien. Poids : 4200 grammes. (11—3—1896.) (Voir planche II.)

L'animal, curarisé par des injections sous-cutanées de 3 et de 2 centigr. de curare, est soumis à la respiration artificielle ; nous lui injectons ensuite dans une veine jugulaire des doses de 10, 20, 45, 60 et 75 centigrammes de stypticine.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant toute injection : | 37 | en | 30 | secondes. |
| Avant l'injection de 10 centigr. de stypticine : | 118 | » | » | » |
| 5 minutes après l'inj. de 10 centigr. de stypticine : | 84 | » | » | » |

Avant l'injection de 20 centigr. de stypticine : 113 en 30 secondes.
5 minutes après l'inj. de 20 centigr. de stypticine : 100 » » »
(Immédiatement avant l'inj. de 45 centigr. de stypticine.)

| | |
|---|---|
| 5 minutes après l'injection de 45 centigrammes : | 94 en 30 secondes. |
| 35 » » » » » » | 95 » » » |
| 55 » » » » » » | 84 » » » |
| 75 » » » » » » | 89 » » » |
| 105 » » » » » » | 90 » » » |
| 135 » » » » » » | 85 » » » |
| 150 » » » » » » | 88 » » » |
| 165 » » » » » » | 89 » » » |
| 195 » » » » » » | 83 » » » |
| 210 » » » » » » | 90 » » » |

215 minutes après l'injection de 45 centigrammes de stypticine, nous pratiquons une nouvelle injection intraveineuse de 60 centigrammes :

| | |
|---|---|
| Avant l'injection : | 88 en 30 secondes. |
| 5 minutes après l'injection : | 80 » » » |
| 10 » » » | 80 » » » |
| 25 » » » | 79 » » » |
| 40 » » » | 78 » » » |
| 55 » » » | 74 » » » |
| 70 » » » | 71 » » » |
| 85 » » » | 67 » » » |

90 minutes après l'injection de 60 centigrammes, nous faisons une dernière injection intraveineuse de 75 centigrammes :

| | |
|---|---|
| Avant l'injection : | 67 en 30 secondes. |
| 5 minutes après l'injection : | 68 » » » |
| 35 » » » | 67 » » » |

*Amplitude.* — Les injections de 10 et de 20 centigrammes ne produisent presque pas de modifications de l'amplitude : pendant l'injection, une légère augmentation se produit; après, une diminution à peine appréciable.

L'injection de 45 centigrammes produit vers le milieu de l'injection, qui dure 3 à 4 minutes, une augmentation de l'amplitude; à la fin de l'injection, et pendant les 5 minutes qui suivent, l'amplitude est redevenue normale. 30 minutes plus tard elle a dépassé notablement la normale; cette augmentation très marquée se maintient et atteint son maximum 135 minutes après l'injection. L'amplitude décroît ensuite lentement, graduellement, mais dépasse encore celle qui existait avant la troisième

dose de stypticine, au moment de l'injection de 60 centigrammes, c'est-à-dire 215 minutes plus tard.

L'injection de 60 centigrammes, qui dure 4 minutes, provoque au début une augmentation de l'amplitude à laquelle fait suite une diminution marquée; cette diminution persiste les premières minutes qui suivent l'injection. Les excursions augmentent ensuite graduellement et dépassent de nouveau celles qui existaient avant l'administration des 60 centigr.; leur maximum est atteint 40 minutes après l'injection. L'amplitude décroît ensuite graduellement jusqu'à l'injection de 75 centigrammes; à ce moment elle est encore plus grande que celle qui existait avant l'injection.

Les 75 centigrammes, injectés en 4 à 5 minutes, provoquent vers la fin de l'injection une diminution sensible de l'amplitude, ainsi que pendant les premières minutes qui suivent. La diminution est bientôt remplacée par une nouvelle augmentation. A ce moment, nous abandonnons l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale :* l'injection de 10 centigrammes ne produit aucune modification, si ce n'est une élévation momentanée au début de l'injection. Il en est de même pour l'injection de 20 centigrammes; il survient cependant avant l'injection de 45 centigrammes un léger abaissement.

Pendant l'injection de 45 centigrammes, il se produit un léger abaissement; après l'injection, la pression se relève, dépasse faiblement celle qui existait avant l'administration de cette dose. Une demi heure plus tard, elle a notablement baissé par suite de l'augmentation de l'amplitude. Cet abaissement est persistant, mais la pression se relève à mesure que l'amplitude diminue et est très rapprochée de celle qui existait avant l'injection au moment de l'administration de 60 centigrammes.

Les 60 centigrammes déterminent au début de l'injection, à cause de l'augmentation de l'amplitude, un abaissement de la pression minimale; mais pendant l'injection encore, la pression se relève, devient normale et de nouveau faiblement subnormale dès la première minute qui suit. Cette chute augmente à mesure que l'amplitude s'accroît. Nous ne rencontrons plus ici ce relèvement de la pression quand l'amplitude diminue.

L'injection des 75 centigrammes produit à la fin de l'injection, et les premières minutes qui suivent, une élévation de la pression; quand l'amplitude des ondes pulsatiles augmente, la pression baisse.

B) *maximale :* les injections de 10 et de 20 centigrammes amènent les mêmes modifications que pour la pression minimale.

Les 45 centigrammes élèvent légèrement la pression pendant les premières minutes qui suivent l'injection. Cette élévation, par suite de

l'augmentation de l'amplitude, est persistante et d'autant plus marquée que les ondes pulsatiles sont plus étendues. Au fur et à mesure que celles-ci diminuent, la pression baisse et revient sensiblement à la pression existant avant l'injection des 45 centigrammes.

A part une légère élévation se manifestant au début de l'injection des 60 centigrammes, cette dose détermine un abaissement de la pression, d'autant plus marqué que l'amplitude devient plus petite. Au fur et à mesure que cette dernière augmente, la pression se relève, devient normale et surnormale. Quand l'amplitude décroît, la pression baisse de nouveau, et, à l'administration des 75 centigrammes, elle est sensiblement inférieure à celle existant avant l'injection.

A la fin de l'injection des 75 centigrammes, il se produit un très léger abaissement de la pression, qui persiste les premières minutes qui suivent. Une demi-heure plus tard, l'amplitude s'étant accrue notablement, la pression s'élève et dépasse celle qui existait avant l'administration de cette dernière dose.

Chien. Poids : 4700 grammes. (16—3—1896.)

L'animal est curarisé par des injections hypodermiques successives de 4 et 1,5 centigrammes de curare. Nous lui injectons ensuite très lentement dans une jugulaire 75 centigrammes de stypticine, et 110 minutes plus tard 120 centigrammes.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la 1e injection de stypticine : | 111 en 30 secondes. |
| Pendant » » » | 88 » » » |
| 5 minutes après la 1e injection de stypticine : | 87 » » » |
| 20 » » » » » » | 82 » » » |
| 35 » » » » » » | 84 » » » |
| 50 » » » » » » | 82 » » » |
| 65 » » » » » » | 75 » » » |
| 80 » » » » » » | 75 » » » |
| 95 » » » » » » | 77 » » » |
| 110 » » » » » » | 77 » » » |
| (Avant la 2de injection.) | |
| Pendant la 2e injection : | 92 » » » |
| 5 minutes après la 2e injection : | 70 » » » |
| 10 » » » » | 65 » » » |

*Amplitude.* — Augmente pendant la première injection; elle diminue ensuite pendant quelques minutes, tout en restant surnormale; puis, elle augmente de nouveau graduellement, atteint son maximum 35 minutes

après l'injection, reste au même niveau pendant 45 minutes et diminue alors graduellement jusqu'à la seconde injection ; à ce moment, l'amplitude dépasse encore notablement celle qui existait avant l'administration de stypticine. L'injection de 120 centigr. ne modifie, ni pendant l'injection, ni les 10 minutes qui suivent, l'amplitude des ondes pulsatiles.

*Pression.* — A) ***minimale*** : présente des oscillations pendant l'injection ; elle est tantôt surnormale, tantôt subnormale ; à la fin de l'injection, elle est légèrement subnormale ; elle se relève ensuite à la normale pendant quelques minutes ; elle baisse alors de nouveau graduellement jusqu'à la nouvelle injection de 120 centigrammes. Cette dernière provoque, pendant l'injection et les premières minutes qui suivent, un léger relèvement, mais la pression revient bientôt au niveau qui existait avant l'administration de cette dose.

B) ***maximale*** : subit les mêmes oscillations que la pression minimale pendant la première injection ; elle dépasse ensuite pendant 35 minutes la pression qui existait avant l'administration de stypticine ; elle décroît alors graduellement jusqu'à la nouvelle injection.

Les 120 centigrammes impriment à la pression maximale les mêmes modifications qu'à la pression minimale.

Lapin N° 36. Poids : 2200 grammes. (18—3—1896.)

L'animal est paralysé par une injection hypodermique de 3 centigrammes de curare. Nous lui injectons ensuite dans une jugulaire 50 centigrammes de stypticine, et plus tard 80 centigrammes.

*Fréquence.* — Avant la 1e injection de stypticine : 158 en 30 secondes.

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après | | | » | » | » | » | 92 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | » | » | 100 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | » | » | 109 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | » | » | » | 107 | » | » | » |
| 45 | » | » | » | » | » | » | 101 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | » | » | » | 91 | » | » | » |
| 75 | » | » | » | » | » | » | 90 | » | » | » |

(Avant la 2e injection de stypticine.)

2 minutes après la 2e injection : 66 » » »

L'animal succombe 10 à 15 minutes après cette dernière dose par arrêt du cœur.

*Amplitude.* — Augmente d'une façon peu marquée par les deux injections.

*Pression.* — A) *minimale* : baisse pendant la première injection et les premières minutes qui suivent ; 10 minutes après la fin de l'injection la

pression devient normale et surnormale pendant quelques minutes; elle baisse ensuite graduellement jusqu'à la seconde injection, qui augmente encore cette chute.

B) *maximale :* tombe pendant la première injection; cet abaissement devient de plus en plus marqué. La seconde injection détermine un effet analogue.

*Conclusions.* — Cette série d'expériences nous apprend 1° d'abord, ce fait capital que l'on peut administrer au chien et au lapin, curarisés et soumis à la respiration artificielle, jusqu'à des doses 3—4 fois mortelles et davantage même sans provoquer un symptôme inquiétant dans le fonctionnement du cœur.

La mort, déterminée par la dose de 20 centigrammes chez le lapin et de 30 centigrammes chez le chien, résulte donc bien de l'arrêt du cœur et des autres fonctions; la stypticine n'est donc pas un poison cardiaque.

2° En tenant compte des différentes séries d'expériences précédentes, nous concluons que les changements qui surviennent au moment de l'administration de la stypticine et les premières minutes qui suivent chez les animaux respirant naturellement, doivent être imputés à des troubles respiratoires.

3° Si l'injection se pratique avec la même lenteur chez les animaux curarisés que chez les animaux non curarisés, de façon à ce que la stypticine n'arrive pas en solution trop concentrée dans le cœur, les ondées sanguines ne se modifient pas d'une manière sensible chez les premiers. La stypticine ne détermine donc pas d'action locale sur le cœur, ce n'est pas un irritant de cet organe.

4° Par contre, après plusieurs minutes, temps suffisant pour permettre à la stypticine de développer son action générale, nous voyons survenir, comme après les injections intraveineuses et hypodermiques faites à des animaux normaux, une augmentation notable et persistante de l'amplitude et une élévation sensible et durable de la pression maximale. Nous observons donc ici de nouveau une action tardive, tonique, ne se manifestant qu'au bout d'un certain temps, action qui nous paraît précieuse et à laquelle pourraient être dûs, s'ils sont réels, les effets cliniques signalés par GOTTSCHALK, GÄRTIG et NASSAUER.

Ces modifications circulatoires persistent pendant des heures et s'obtient déjà par des doses très faibles en injection hypodermique, de sorte qu'en les répétant 3 à 4 fois par jour, on pourrait garder la circulation sous l'influence permanente de cette action tonique.

### Saignée.

De même que pour le chlorhydrate d'hydrastinine, il y a un véritable intérêt à connaître l'action exercée par la stypticine sur la pression artérielle après soustraction sanguine. Mais, pour juger cette action, il faut évidemment connaître l'évolution de la pression sanguine après la saignée seule. Nous avons institué d'abord quelques expériences dans le but de vérifier les données devenues classiques sur cette question. Nous avons été surpris de constater que nos expériences ne concordent nullement avec celles de la plupart des expérimentateurs dont on a déduit ces données. Dans notre travail sur l'hydrastinine, nous avons simplement signalé ce désaccord et donné quelques tracés. Etudions à présent d'une manière systématique les modifications que les soustractions sanguines déterminent dans l'appareil circulatoire en ce qui concerne la fréquence des battements cardiaques, l'amplitude des ondes pulsatiles et la pression artérielle. Avant de passer à l'exposé de nos recherches personnelles, analysons brièvement celles de nos prédécesseurs en rapportant le résumé succinct et complet que le savant professeur Frédericq, de Liége, donne dans un mémoire couronné par l'académie de médecine(1).

« *Diminution de la pression artérielle.* — On doit s'attendre à voir baisser la pression artérielle à la suite d'une hémorrhagie abondante. Les expériences de Hales, celles de Magendie, de Volkmann, etc., ne laissèrent aucun doute à cet égard et montrèrent qu'il existe un certain rapport entre la quantité de sang tirée et l'importance de la chute de la pression artérielle. Cependant la relation n'est pas aussi simple qu'elle paraît à première vue : en effet, le degré de tension de la paroi artérielle ne dépend pas seulement de la quantité de sang contenue dans les vaisseaux, mais aussi du degré d'élasticité et d'extensibilité des parois vasculaires, qualités éminemment variables d'après l'état de relâchement ou de contraction des muscles vasculaires. Il est donc impossible, à priori, de déterminer exactement les effets de la soustraction d'une certaine quantité de sang sur la pression artérielle : il est nécessaire de recourir dans ce cas à l'expérience directe.

» Les expériences faites par Goltz sur la grenouille, celles de Tappeiner sur le lapin, démontrèrent que l'on peut enlever aux animaux une fraction notable de leur sang sans que la rapidité du courant, ni la pression dans

(1) L. Frédericq : Mémoires couronnés et autres mémoires publiés par l'Acad. de Médec. de Belgique, T. VIII, et Travaux du laboratoire, 1886, p. 150.

les grosses artères diminuent dans une proportion équivalente. NAWROCKI, GATZUCK montrèrent que la pression peut même être passagèrement augmentée à la suite de petites saignées.

» WORM MÜLLER reprit ces recherches en 1872 au laboratoire de LUDWIG. Il étudia successivement l'influence que l'augmentation ou la diminution (par saignée ou par transfusion) de la quantité totale de sang exercent sur la tension artérielle.

» WORM MÜLLER fut amené à distinguer (chez le chien à moelle intacte et soumis à la saignée ou à la transfusion) trois territoires ou degrés de réplétion de l'appareil vasculaire sanguin :

» 1° Un territoire qui s'étend depuis le degré d'anémie le plus prononcé qui soit encore compatible avec la vie, jusqu'à un degré de réplétion de l'appareil vasculaire, où la quantité de sang correspond à 1,5 à 2,5 °/₀ du poids du corps en moins que la quantité normale. Dans ces limites, la pression augmente avec le degré de réplétion progressive de l'appareil vasculaire, depuis 25 à 30 ou 35$^{mm}$ de mercure (qui correspond à la limite inférieure) jusqu'à 120 à 130$^{mm}$ de mercure.

» 2° Un territoire qui commence avec un contenu en sang, inférieur à la normale de 1,5 à 2,5 °/₀ du poids du corps et s'étendant jusqu'à une augmentation de 2—3 ou 4 °/₀ du poids du corps au-dessus de la normale. Dans ces limites, l'augmentation de la pression est beaucoup plus faible et si irrégulière, que, dans certains cas, on peut douter qu'il y ait réellement augmentation. Cependant la pression monte en moyenne de 120—130$^{mm}$ de mercure (limite inférieure) à 165—175$^{mm}$ de mercure (limite supérieure).

» 3° Un territoire commençant à une augmentation de la quantité de sang, correspond à 2—3—4 °/₀ du poids du corps et s'étendant jusqu'à une limite supérieure non encore atteinte. Ici la pression n'augmente plus, les vaisseaux étant fort distendus.

» Le 2$^{e}$ territoire est le plus important au point de vue physiologique. En dessous de sa limite inférieure on observe des symptômes d'anémie et des convulsions; au-dessus de sa limite supérieure, il se produit des vomissements. Dans les limites de ce second territoire, il n'y a pas de symptômes pathologiques à signaler.

» Si l'on part de la quantité normale de sang, et si on note ce qui se passe quand on diminue graduellement cette quantité de 1,5 à 2,5 °/₀ du poids du corps, on voit la pression baisser immédiatement; mais elle remonte bientôt (au plus tard au bout d'une 1/2 minute) presque au niveau primitif et s'y maintient en présentant des oscillations continues. La restitution de la pression à son niveau primitif est trop rapide pour qu'on

puisse la mettre uniquement sur le compte de la résorption de la lymphe interstitielle. De même, à la suite d'une transfusion, la pression momentanément élevée, redescend si rapidement au voisinage de sa valeur normale, que la transsudation (très réelle) du plasma ne peut suffire à l'expliquer. Il s'agit d'une régulation de la pression artérielle par voie nerveuse, sans doute par action vasomotrice, comme semblent l'indiquer les oscillations continues qui accompagnent le mouvement compensateur de descente ou d'élévation de la pression sanguine. Cette supposition se trouve corroborée par ce fait que la régulation en question est liée à l'intégrité du système nerveux central. Après la section de la moelle, on n'observe plus ces variations compensatrices de la pression artérielle, consécutives à la transfusion ou à la saignée. On voit alors la pression monter ou descendre en proportion de la transfusion ou de la saignée et se maintenir d'une façon permanente à un niveau anormal.

» Vinay constate également que la diminution de la pression n'est pas proportionnelle à la quantité de sang extraite par la saignée. Si l'on soumet un chien à des saignées répétées, la chute de la pression est peu marquée au début.

» L'action vasomotrice, soupçonnée par Worm Müller, avait déjà été constatée directement par Hunter. Cet illustre expérimentateur avait vu les artères se contracter parfois jusqu'à l'effacement de leur calibre à la suite d'une hémorrhagie.

» Les recherches de Pawlow et de von Lesser conduisirent aux mêmes conclusions. L'adaptation du système vasculaire à la quantité de sang qu'il contient se fait par contraction, si la masse de sang est diminuée; par dilatation, si cette masse est augmentée. Après toute soustraction de sang, il se produit donc une réparation partielle de la pression artérielle.

» Dans cette régulation de la pression artérielle interviennent encore d'autres facteurs que la contractilité vasculaire, notamment l'accélération des battements du cœur ainsi que la résorption extrêmement rapide de la lymphe interstitielle qui vient immédiatement combler en partie le déficit de sang. Tout récemment, E. N. von Regeczy a même nié la régulation par voie nerveuse de la tension artérielle à la suite d'une hémorrhagie et a admis que la restitution de la pression primitive était due uniquement à la reconstitution rapide de la masse du sang par résorption de lymphe interstitielle.

» *Fréquence des pulsations cardiaques* (1). — L'augmentation de la fréquence

(1) L. Fréderico : Loco citato, et Travaux du laboratoire, 1886, p. 155.

du pouls, à la suite d'une hémorrhagie ou d'une saignée, est un des faits les plus incontestablement acquis à la science et que les physiologistes et cliniciens ont pu depuis longtemps constater et confirmer un grand nombre de fois. Il y a plus de cent ans qu'HALES, appliquant un manomètre à l'artère d'un cheval, vit le pouls s'accélérer à mesure qu'on faisait perdre du sang à l'animal. Le nombre de pulsations, qui était de quarante avant l'hémorrhagie, s'éleva à cent immédiatement après.

» MAREY admit le premier..... »

FRÉDERICQ (1) formule les résultats nouveaux obtenus par ses recherches comme suit :

« *Circulation et respiration.* — L'action que la saignée exerce sur le rythme cardiaque varie chez les différentes espèces animales suivant l'état dans lequel se trouve chez elles le tonus d'arrêt du pneumogastrique. La saignée suspend le tonus d'arrêt :

» 1° Chez le chien et le porc (tonus continu, mais à variations respiratoires), le rythme cardiaque s'accélère et devient uniforme;

» 2° Chez le bœuf et probablement chez l'homme et la plupart des mammifères (tonus continu et uniforme), la saignée accélère simplement le rythme cardiaque;

» 3° Chez le lapin (absence de tonus), le rythme cardiaque n'est pas influencé par la saignée.

» Chez le chien, dans le cours d'une saignée mortelle, les pulsations cardiaques, d'abord accélérées, se ralentissent ensuite (excitation du pneumogastrique) pour s'accélérer de nouveau et devenir irrégulières pendant les derniers instants de la vie. Elles persistent plus longtemps que les mouvements respiratoires.

» Contrairement à l'opinion généralement reçue et basée sur les expériences faites chez le chien, la pression artérielle peut subir, chez le lapin, une baisse considérable et durable, à la suite d'une saignée ne dépassant pas 1 °/o du poids du corps. »

Les résultats de nos expériences, comme nous allons le voir, diffèrent absolument de ceux de WORM MÜLLER et démontrent que l'absence du retour immédiat à la pression normale après soustraction sanguine, loin de constituer l'exception, ainsi que l'indique FRÉDERICQ, doit être considérée comme étant la règle, non seulement chez le lapin, mais aussi chez le chien et le singe.

(1) L. FRÉDERICQ : Loco citato, et Travaux du laboratoire, 1886, p. 226.

Planche III. Lapin N° 58. Poids : 2300 grammes.

Etat normal. Immédiatement après la saignée. 5 min. 40 min.

Lapin N° 86. Poids : 2220 grammes.

Etat normal. Immédiatement après la saignée. 7 min. 22 min. 45 min.

Lapin N° 87. Poids : 2360 grammes.



Soustraction de 45 centimètres cubes de sang.
Début. Fin.

5 min. après. 15 min. 22 min. 45 min.

1. Lapin N° 38. Poids : 2300 grammes. (18—3—1896.)
Soustraction de 0,5 °/₀ du poids du corps. (Voir planche III.)
Soustraction de 11 centimètres cubes de sang.

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | | | | | 166 | en | 30 | secondes. |
| 5 minutes après la saignée : | | | | | 152 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 156 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 153 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 156 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 170 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | » | 168 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | » | 171 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | » | 168 | » | » | » |
| 45 | » | » | » | » | 161 | » | » | » |

*Amplitude.* — Ne subit guère de modifications; 3 minutes après la saignée, un caillot s'est formé.

*Pression.* — A) *minimale :* subit un très léger abaissement pendant les premières minutes qui suivent l'injection, mais elle remonte bientôt et se maintient très voisine de la normale jusqu'à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* cf. la minimale.

2. Lapin n° 86. Poids 2220 grammes. (2—3—1896.)
Soustraction de 1 °/₀ du poids du corps. (Voir planche III.)
Soustraction de 25 centimètres cubes de sang.

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | | | | | 144 | en | 30 | secondes. |
| 5 minutes après la saignée : | | | | | 148 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 143 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 151 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 139 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 146 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | » | 141 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | » | 157 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | » | 143 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente par la saignée; cette augmentation, très peu sensible, se maintient pendant toute l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale* et B) *maximale :* tombent sensiblement par la saignée; cet abaissement se maintient après la soustraction; les pressions se relèvent graduellement pendant 20 minutes environ et restent ensuite à la même hauteur pendant le reste de l'expérience; elles sont pendant tout ce temps notablement inférieures à la normale.

3. Lapin N° 72. Poids : 2170 grammes. (4—3—1896.)

Soustraction de 1,5 °/₀ du poids du corps.

Soustraction de 30 centimètres cubes de sang.

*Fréquence.* — Avant la saignée : 144 en 30 secondes.

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après la saignée : | | | | | 122 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 126 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 128 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 138 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 140 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | » | 144 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | » | 147 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | » | 141 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente par la saignée; cette augmentation est persistante.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse notablement par la saignée; cet abaissement, le plus marqué à la fin de la soustraction sanguine, diminue graduellement pendant 15 à 20 minutes; à partir de ce moment, la pression, très inférieure à la normale, se maintient au même niveau pendant tout le reste de l'expérience.

4. Lapin N° 87. Poids : 2360 grammes. (2—3—1896.)

Soustraction de 2 °/₀ du poids du corps. (Voir planche III.)

Soustraction de 45 centimètres cubes de sang.

*Fréquence.* — Avant la saignée : 141 en 30 secondes.

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après la saignée : | | | | | 114 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 130 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 133 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 136 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 132 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | » | 151 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | » | 144 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | » | 147 | » | » | » |
| 45 | » | » | » | » | 148 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente pendant la saignée; cette amplitude surnormale est persistante.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe rapidement pendant la saignée; elle se relève ensuite graduellement, mais est encore très subnormale à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* cf. la minimale.

5. Lapin N° 42. Poids : 2220 grammes. (28—3—1896.)

Soustraction de 2,5 °/₀ du poids du corps.

Soustraction de 55 centimètres cubes de sang.

*Frequence.* — Avant la saignée : 126 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après la saignée : | | | | 127 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 148 » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 146 » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 155 » | » | » |

A ce moment il s'est formé un caillot.

*Amplitude.* — Augmente pendant la saignée et après ; cette augmentation très sensible est persistante.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse fort pendant l'injection ; elle se relève graduellement et lentement mais est encore fort subnormale à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* malgré l'augmentation de l'amplitude, elle reste aussi notablement inférieure à la normale.

6. *a)* Lapin N° 53. Poids : 2150 grammes. (25—3—1896.)

Soustraction de 3 °/₀ du poids du corps.

Soustraction de 60 centimètres cubes de sang.

*Fréquence.* — Avant la saignée : 154 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après la saignée : | | | | 97 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 106 » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 121 » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 132 » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 133 » | » | » |
| 30 | » | » | » | » | 135 » | » | » |
| 35 | » | » | » | » | 135 » | » | » |
| 40 | » | » | » | » | 142 » | » | » |
| 45 | » | » | » | » | 140 » | » | » |

*Amplitude.* — Diminue pendant la saignée et après ; elle augmente ensuite graduellement, atteint la normale au bout de 40 minutes, s'y maintient, devient même surnormale pendant quelques minutes et sensiblement normale jusqu'à la fin de l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe rapidement pendant la saignée, se tient au même niveau pendant 6 à 7 minutes, se relève lentement et graduellement, mais est encore très inférieure à la normale à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* cf. la minimale.

45 à 50 minutes après la saignée, nous abandonnons l'expérience. L'animal reste attaché sur l'appareil de CZERMAK ; il meurt 5 à 10 minutes plus tard.

*b)* Lapin N° 51. Poids : 2270 grammes. (25—3—1896.)

Soustraction de 65 centimètres cubes de sang.

| | | |
|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | | 138 en 30 secondes. |
| | 5 minutes après la saignée : | 109 » » » |
| | 10 » » » » | 112 » » » |

Puis ralentissement progressif jusqu'à la mort, qui survient environ 15 minutes après la saignée.

*Amplitude.* — Diminue par la saignée; cette diminution très marquée persiste jusqu'à la mort.

Les dernières minutes, il se produit une légère augmentation de l'amplitude, celle-ci restant toutefois notablement subnormale.

*Pression.* — A) *minimale* : baisse par la saignée; cet abaissement persiste jusqu'à la mort.

B) *maximale* cf. la minimale.

*c)* Lapin. Poids : 2370 grammes. (25—3—1896.)

Soustraction de 70 centimètres cubes de sang.

| | | |
|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | | 168 en 30 secondes. |
| | 2 minutes après la saignée : | 66 » » » |

Puis ralentissement progressif, qui survient 5 à 6 minutes après la fin de la saignée.

*Amplitude.* — Diminue par la saignée; la diminution est surtout marquée à la fin de la soustraction, où le cœur s'arrête pendant quelques secondes. 2 minutes plus tard, l'amplitude augmente, mais n'atteint pas sa valeur initiale; elle diminue ensuite graduellement jusqu'à la mort.

*Pression.* — Les deux pressions minimale et maximale tombent brusquement dès le début de la saignée; abstraction faite du moment où il y a un relèvement de l'amplitude, elles baissent graduellement jusqu'à la mort.

1. Chien. Poids : 5160 grammes. (29—3—1896.)

Soustraction de 0,5 % du poids du corps.

Soustraction de 25 centimètres cubes de sang.

| | | |
|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | | 81 en 30 secondes. |
| | 5 minutes après la saignée : | 84 » » » |
| | 10 » » » » | 82 » » » |
| | 15 » » » » | 86 » » » |
| | 20 » » » » | 85 » » » |
| | 25 » » » » | 87 » » » |
| | 30 » » » » | 85 » » » |
| | 35 » » » » | 93 » » » |

40 minutes après la saignée : 90 en 30 secondes.

45 » » » » 92 » » »

*Amplitude.* — Ne subit guère de modifications.

*Pression.* — A) ***minimale :*** reste sensiblement normale pendant 25 min.; elle tombe ensuite légèrement en dessous de la normale jusqu'à la fin de l'expérience.

B) ***maximale :*** cf. la minimale.

2. Chien. Poids : 7040 grammes. (2—3—1896.)

Soustraction de 1 °/₀ du poids du corps.

Soustraction de 80 centimètres cubes de sang.

*Fréquence.* — Avant la saignée : 56 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après la saignée : | | | | 55 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 53 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 51 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 47 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | 56 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 54 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | 52 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | 54 | » | » | » |

*Amplitude.* — Abstraction faite des moments d'agitation, elle diminue après la saignée; cette diminution est persistante; à la fin de l'expérience l'amplitude est redevenue sensiblement normale.

*Pression.* — A) ***minimale :*** ne change guère pendant la saignée et les 5 minutes qui suivent; à ce moment elle baisse légèrement; cet abaissement peu marqué est persistant.

B) ***maximale :*** baisse légèrement, mais manifestement, dès la première minute qui suit la saignée; cet abaissement est persistant.

3. Chien. Poids : 9200 grammes. (3—3—1896.) (Voir planche IV.)

Soustraction de 1,5 °/₀ du poids du corps.

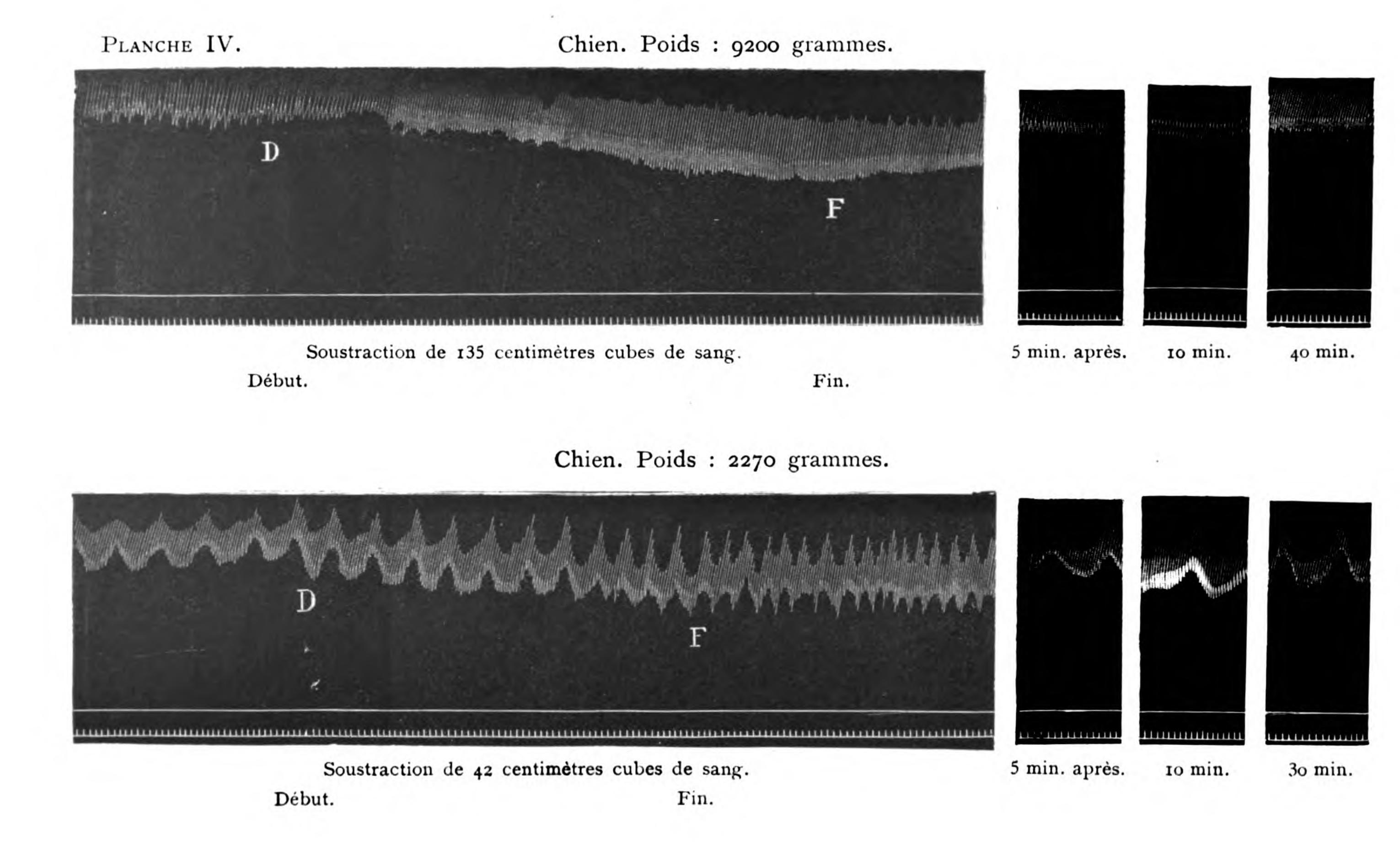
Soustraction de 135 centimètres cubes de sang.

*Fréquence.* — Avant la saignée : 39 en 30 secondes.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après la saignée : | | | | 50 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | 47 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | 50 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | 51 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | 68 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | 68 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | 71 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | 73 | » | » | » |

PLANCHE IV.

Chien. Poids : 9200 grammes.




Soustraction de 135 centimètres cubes de sang.
Début. Fin.
5 min. après. 10 min. 40 min.

Chien. Poids : 2270 grammes.

Soustraction de 42 centimètres cubes de sang.
Début. Fin.
5 min. après. 10 min. 30 min.

*Amplitude.* — A part une augmentation pendant la saignée, il se produit une diminution persistante de l'amplitude.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse pendant la saignée ; elle se maintient subnormale pendant 10 minutes, redevient normale et surnormale pendant les 5 minutes qui suivent, et sensiblement normale pendant le reste de l'expérience.

B) *maximale :* baisse pendant la saignée ; cet abaissement, tout en diminuant, persiste 10 minutes. La pression redevient normale pendant quelques minutes pour retomber en dessous de la pression initiale jusqu'à la fin.

4. Chien. Poids : 2270 grammes. (Voir planche IV.)

Soustraction de 2 °/o du poids du corps.

Soustraction de 42 centimètres cubes de sang.

*Fréquence.* — Avant la saignée : 89 en 30 secondes.

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après la saignée : | | | | 74 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 92 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 95 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 90 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 89 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | » | 88 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | » | 89 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | » | 82 | » | » | » |

*Amplitude.* — Augmente pendant la saignée et la 1re minute qui suit ; elle devient ensuite subnormale pendant 15 minutes, normale et légèrement surnormale jusqu'à la fin.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe dès le début de la saignée ; cet abaissement est persistant.

B) *maximale :* cf. la minimale.

5. Chien. Poids : 2100 grammes.

Soustraction de 2,5 °/o du poids du corps.

Soustraction de 55 centimètres cubes de sang.

*Fréquence.* — Avant la saignée : 60 en 30 secondes.

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 minutes après la saignée : | | | | 67 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 70 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 71 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 77 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 87 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | » | 81 | » | » | » |
| 35 | » | » | » | » | 80 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | » | 80 | » | » | » |

*Amplitude.* — A part une augmentation notable pendant la saignée et la première minute qui suit, il y a une diminution durable de l'amplitude. Les 10 dernières minutes, l'amplitude devient surnormale.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe notablement pendant la saignée et après; un abaissement marqué persiste pendant toute l'expérience.

B) *maximale :* cf. la minimale.

6. Chien. Poids : 4810 grammes. (9—3—1896.)

Soustraction de 140 centimètres cubes de sang, soit 3 °/₀ du poids du corps.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | 40 en 30 secondes. |
| 5 minutes après la saignée : | 59 » » » |
| 10 » » » » | 69 » » » |
| 15 » » » » | 65 » » » |
| 20 » » » » | 61 » » » |
| 25 » » » » | 65 » » » |
| 30 » » » » | 68 » » » |
| 35 » » » » | 59 » » » |
| 40 » » » » | 62 » » » |

*Amplitude.* — Il se produit pendant la saignée et la première minute qui suit, une augmentation de l'amplitude à laquelle succède une diminution durable. Les 10 à 15 dernières minutes, l'amplitude redevient normale et même légèrement surnormale.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe rapidement pendant la saignée, se relève graduellement, surtout la première minute qui suit la soustraction, mais n'atteint pas la normale à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* cf. la minimale.

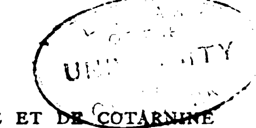
7. *a)* Chien. Poids : 8000 grammes. (24—3—1896.)

Soustraction de 3,5 °/₀ du poids du corps.

Soustraction de 250 centimètres cubes de sang.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | 52 en 30 secondes. |
| 5 minutes après la saignée : | 41 » » » |
| 10 » » » » | 50 » » » |
| 15 » » » » | 58 » » » |
| 20 » » » » | 66 » » » |
| 25 » » » » | 66 » » » |
| 30 » » » » | 66 » » » |
| 35 » » » » | 75 » » » |
| 40 » » » » | 71 » » » |

*Amplitude.* — Augmente considérablement vers le milieu de la saignée;





à la fin de cette dernière, et surtout la première minute qui suit, elle diminue pour augmenter de nouveau rapidement et devenir surnormale pendant 15 minutes, normale et légèrement subnormale ensuite.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse rapidement vers la fin de la saignée; cet abaissement est persistant; la pression se relève lentement, mais est encore notablement subnormale à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* cf. la minimale.

*b)* Chien. Poids : 3805 grammes. (30—3—1896.)

Soustraction de 3,5 °/₀ du poids du corps.

Soustraction de 130 centimètres cubes de sang.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | 76 en 30 secondes. |
| Vers le milieu de la saignée, qui dure 8 $^1/_2$ minutes : | 66 » » » |
| A la fin de la saignée : | 12 » » » |

Puis ralentissement graduel jusqu'à la mort, qui survient environ 10 à 11 minutes après la saignée.

*Amplitude.* — Augmente au début de la saignée; elle diminue bientôt et devient subnormale. A la fin de la soustraction, elle dépasse de nouveau la normale, mais les pulsations sont devenues très espacées. L'amplitude diminue ensuite graduellement jusqu'à la mort.

*Pression.* — A) *minimale :* est réduite presque à zéro dès les premières secondes de la saignée; cet abaissement persiste jusqu'à la mort.

B) *maximale :* baisse fort dès la 1<sup>re</sup> minute de la saignée; elle s'élève ensuite graduellement à la suite de l'augmentation de l'amplitude et baisse après jusqu'à la mort.

8. Chien. Poids : 3495 grammes. (24—3—1896.)

Soustraction de 4 °/₀ du poids du corps.

Soustraction de 128 centimètres cubes de sang.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | 80 en 30 secondes. |
| 5 minutes après la saignée : | 45 » » » |
| 10 » » » » | 50 » » » |
| 15 » » » » | 60 » » » |
| 20 » » » » | 66 » » » |
| 25 » » » » | 66 » » » |
| 30 » » » » | 66 » » » |
| 35 » » » » | 64 » » » |
| 40 » » » » | 60 » » » |

*Amplitude.* — Augmente pendant la saignée; vers la fin, et pendant les premières minutes qui suivent, elle devient subnormale; puis les excursions de l'onde pulsatile deviennent très irrégulières : elles sont tantôt très

étendues, tantôt très petites. Au bout d'une dizaine de minutes, le cœur devient plus régulier, l'amplitude est légèrement inférieure à la normale ; elle s'y maintient pendant quelques minutes, devient normale et surnormale jusqu'à la fin.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe brusquement pendant la saignée; ce fort abaissement persiste. La pression se relève graduellement et très lentement; au moment de l'interruption de l'expérience elle est encore notablement subnormale.

B) *maximale :* à part les modifications imprimées par les pulsations amples et irrégulières, elle subit les mêmes modifications que la pression minimale.

Après l'expérience, l'animal est immédiatement détaché; couché à terre, il reste immobile; nous le déplaçons avec intention : la mort survient presque instantanément.

9. Chien. Poids 3350 grammes. (24—3—1896.)

Soustraction de 4,5 °/₀ du poids du corps.

Soustraction de 147 centimètres cubes de sang.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | | | | | 80 en 30 secondes. | | |
| 5 minutes après la saignée : | | | | | 56 | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 50 | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 57 | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 61 | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 61 | » | » |
| 30 | » | » | » | » | 61 | » | » |
| 35 | » | » | » | » | 60 | » | » |
| 40 | » | » | » | » | 57 | » | » |

*Amplitude.* — Augmente au début de la saignée; elle diminue vers le milieu ainsi que pendant les 7 à 8 minutes qui la suivent. Les ondes pulsatiles deviennent ensuite irrégulières; elles sont tantôt subnormales, tantôt surnormales; vers la fin de l'expérience, l'amplitude est d'ordinaire surnormale.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe très rapidement dès le début de la saignée; cet abaissement est persistant. La pression se relève ensuite graduellement, mais très lentement; elle présente des oscillations périodiques. Les oscillations respiratoires sont tantôt petites, tantôt très marquées, leur maximum correspondant souvent avec le maximum des oscillations périodiques.

B) *maximale :* cf. la minimale.

Le chien, détaché et déposé sur le plancher, se tient en vie, mais reste immobile. Une demi-heure plus tard, il est tué par le chloroforme.

10. Chien. Poids : 3860 grammes. (30—3—1896.)
Soustraction de 5 °/₀ du poids du corps.
Soustraction de 178 centimètres cubes de sang.

| | | |
|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | | 89 en 30 secondes. |
| 5 minutes après la saignée : | | 78 » » » |
| 10 » » » » | | 61 » » » |
| 15 » » » » | | 47 » » » |

La mort survient 16 à 17 minutes après la saignée.

*Amplitude.* — A part une augmentation au début de la saignée, il se produit une diminution très marquée de l'amplitude. 3 minutes après la soustraction, l'amplitude dépasse la normale pendant quelques secondes, puis décroît graduellement. Les 9 à 10 dernières minutes, les ondes pulsatiles ont une étendue variable; les unes sont subnormales, les autres surnormales.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse brusquement dès le début de la saignée; cet abaissement est persistant; il se produit dès la 3e minute après la soustraction un léger relèvement qui se maintient jusqu'à la dernière minute.

B) *maximale :* subit sensiblement les mêmes modifications que la pression minimale, abstraction faite de l'irrégularité de l'étendue des pulsations.

*Conclusions.* — Etudions à présent les conclusions qui se dégagent de cette série déjà longue de tracés :

1° La saignée minimale, capable de déterminer des modifications circulatoires appréciables, s'élève environ à 0,5 °/₀ du poids du corps chez le lapin, et à 1 °/₀ chez le chien.

2° La saignée mortelle, c'est-à-dire celle qui est suivie immédiatement de mort, est en moyenne de 3 à 3,5 °/₀ du poids du corps chez le lapin et de 4,5 à 5 °/₀ chez le chien. Toutefois, des soustractions dépassant 2,5 °/₀ du poids du corps chez le lapin, 3 à 3,5 °/₀ chez le chien, amènent souvent la mort au bout de quelques heures à quelques jours.

3° L'accélération des battements cardiaques n'est pas constante, comme l'a déjà signalé Frédericq :

*a)* Chez le lapin, où le tonus du pneumogastrique fait défaut (Frédericq), aux modifications duquel Bernstein attribue les changements du rythme cardiaque, l'augmentation persistante de la fréquence est un fait exceptionnel; il survient souvent un ralentissement marqué et d'autant plus grand et plus prolongé que la saignée est plus forte. A ce ralentissement fait suite une fréquence normale et même surnormale.

Des soustractions mortelles provoquent un ralentissement constant et graduel dès le début de la saignée.

*b)* Le chien se comporte tout autrement. FRÉDERICQ le range aussi dans la classe des animaux à tonus continu du pneumogastrique, mais présentant des variations respiratoires périodiques. D'après le même auteur, toute suppression du tonus du pneumogastrique (section des deux vagues au cou, paralysie de leurs terminaisons nerveuses intracardiaques par l'atropine) accélère le rythme cardiaque et le rend absolument régulier. La saignée produit le même effet : pulsations à fréquence considérable aux deux temps de la respiration.

Nous avons, à notre tour, observé cette accélération presque constante des mouvements cardiaques. Cependant, pendant les 5 à 10 premières minutes qui suivent la saignée, il survient parfois un ralentissement assez marqué. Des saignées fortes, voisines de la limite mortelle, déterminent un ralentissement très sensible et persistant. Les soustractions mortelles provoquent un ralentissement progressif jusqu'à la mort.

4° Les modifications de l'amplitude des pulsations artérielles n'ont pas attiré l'attention de FRÉDERICQ et des observateurs qui l'ont précédé; pourtant, elles sont constantes et différentes chez le lapin et le chien :

*a)* Chez le lapin, des saignées allant jusque 2,5 °/o du poids du corps, augmentent l'amplitude pendant et après l'hémorrhagie. Cette augmentation est persistante et souvent très marquée. Des soustractions mortelles amènent une diminution constante et graduelle de l'étendue des pulsations; quelques minutes avant la mort, il survient une légère augmentation de l'amplitude; celle-ci reste toutefois bien inférieure à la normale.

*b)* Chez le chien, des saignées allant jusque 3,5 °/o du poids du corps, déterminent pendant l'hémorrhagie et les premières secondes qui suivent une augmentation sensible de l'amplitude qui est bientôt remplacée par une diminution constante et prolongée. Les hémorrhagies plus fortes et mortelles provoquent après une période d'augmentation encore plus passagère, déjà à la fin de la saignée, une diminution sensible pendant quelques minutes. Les pulsations deviennent ensuite irrégulières : elles sont tantôt subnormales, tantôt surnormales.

5° Contrairement aux idées généralement admises, nous n'avons constaté ni chez le lapin, ni chez le chien, ce retour rapide en quelques secondes, de la pression à la hauteur initiale après une soustraction sanguine déjà assez forte (1,5 à 2,5 °/o du poids du corps d'après WORM MÜLLER). L'abaissement, même après des saignées faibles (0,5 °/o du poids du corps chez le lapin, 1 °/o chez le chien) est persistant.

Les pressions minimale et maximale tombent brusquement dès le début de la saignée chez le lapin.

Chez le chien, cet abaissement est très variable : les animaux, non soumis à la narcose, s'agitent souvent dès le début de l'hémorrhagie ; le cœur devient irrégulier, la pression peut même s'élever ; alors l'abaissement immédiat fait défaut. Quand l'animal est revenu au calme, la pression tombe graduellement ; cet abaissement est persistant et d'autant plus marqué et plus prolongé que la saignée a été plus considérable. Dans les cas où le chien se tient tranquille pendant et après la saignée, la chute de la pression est presque aussi brusque que chez le lapin. Le retour vers la pression initiale se fait ensuite plus ou moins lentement d'après l'intensité de la saignée.

Ni chez le lapin, ni chez le chien, la pression n'atteint le niveau primitif 40 à 50 minutes après une saignée un peu forte (1 °/₀ chez le lapin, 1,5 chez le chien).

D'après nous, ces faits, résultats d'expériences faites sur des animaux non narcotisés, démontrent manifestement que la vasoconstriction seule ne suffit pas, comme beaucoup d'auteurs l'admettent, pour ramener après une saignée (en dessous de 1,5 à 2,5 °/₀ du poids du corps) la pression à l'état normal. La vasoconstriction, ainsi que l'activité cardiaque, ramènent la pression à un certain niveau ; mais pour la faire revenir complètement à la hauteur initiale il faut un temps prolongé, pendant lequel la résorption et l'absorption réparent d'une manière suffisante la perte de sang.

Quant aux modifications apportées par la saignée à la circulation sanguine chez l'homme, nous n'avons pas fait d'expériences personnelles. Il est très probable qu'il se produit des changements analogues à ceux que nous avons enregistrés chez les animaux. Ainsi, en 1872, TEMPENI (1), étudiant l'action physiologique de la saignée chez l'homme, a signalé un abaissement de la pression.

SILVA (2) conclut de ses observations que la saignée, même faible, baisse la pression. Cet abaissement atteint son maximum 1/4 d'heure à 1 heure après la fin de la soustraction (saignée veineuse) ; il persiste 3 à 5 heures quand la quantité ne dépasse pas 1 °/₀ du poids du corps. Par des saignées plus fortes, la chute persiste 30 à 48 heures. L'abaissement, proportionnel

(1) TEMPENI : *Del valore terapeutico del salasso.* Ref. in Jahresberichte über die Leistungen und Fortschritte in der gesammten Medicin, 1872, Bd. I, S. 276.

(2) SILVA : *Del salasso sulla pressione sanguigna nell' uomo.* Ref. in Jahresberichte über die Leistungen und Fortschritte in der gesammten Medicin, 1884, Bd. I, S. 310.

à l'intensité de la saignée, varie entre 14 et 15 millimètres. Les jours suivants, les oscillations journalières de la pression n'apparaissent pas non plus d'une façon aussi marquée qu'avant l'hémorrhagie. Crocq(1) signale également en tête des modifications déterminées par la saignée l'abaissement de la pression, surtout marqué au niveau des régions congestionnées. Par la diminution du nombre des globules rouges et le manque d'oxygène qui en résulte, il se produit une excitation du centre vasomoteur qui provoque un rétrécissement des vaisseaux. Le mouvement du sang devient plus rapide et la fréquence du pouls augmente.

L'expérience suivante, instituée chez le singe, apporte pour ainsi dire la preuve directe qu'il en est ainsi chez l'homme :

Singe, genre Rhesus, poids : 2500 grammes, tout-à-fait normal, vivant depuis plus d'un an au laboratoire et n'ayant pas été employé pour des expériences antérieures :

Le 28—4—1896 : Soustraction sanguine de 40 centimètres cubes. (Voir planche V.)

| | | |
|---|---|---|
| *Fréquence.* — | Avant la saignée : | 105 en 30 secondes. |
| | 5 minutes après la saignée : | 116 » » » |
| | 10 » » » » | 109 » » » |
| | 15 » » » » | 105 » » » |
| | 20 » » » » | 107 » » » |
| | 25 » » » » | 111 » » » |
| | 30 » » » » | 107 » » » |
| | 35 » » » » | 112 » » » |
| | 40 » » » » | 114 » » » |
| | 45 » » » » | 112 » » » |
| | 50 » » » » | 113 » » » |

*Amplitude.* — Augmente dès la fin de la saignée et atteint son maximum pendant les premières minutes qui suivent. Elle diminue ensuite graduellement, mais reste surnormale jusqu'à la fin de l'expérience. Les 10 à 15 dernières minutes, il se produit une nouvelle augmentation de l'étendue des ondes pulsatiles.

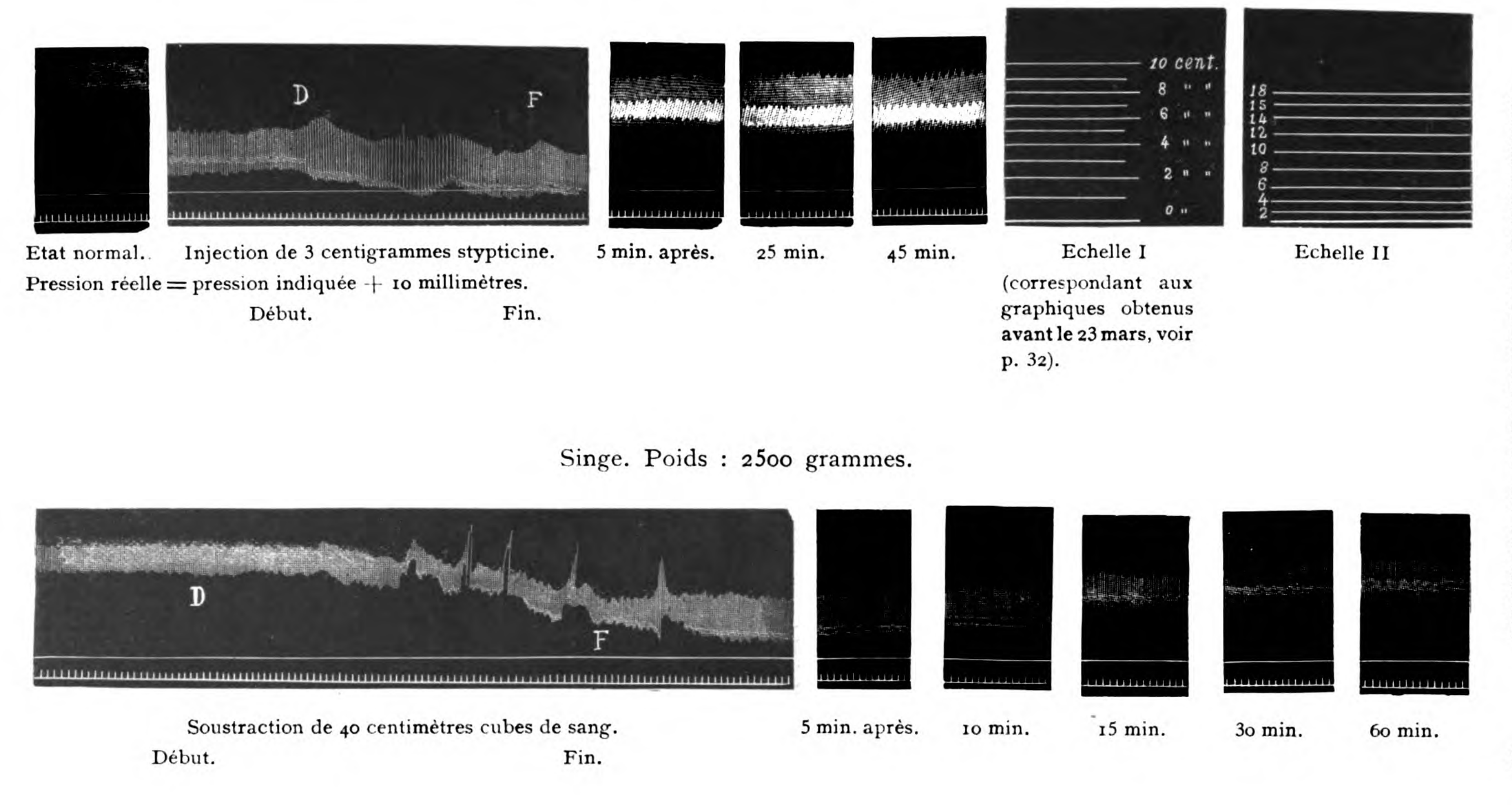
*Pression.* — a) *minimale :* baisse vers le milieu de la saignée; l'abaissement est le plus marqué la 1re minute qui suit la fin de la soustraction sanguine. La pression se relève ensuite très lentement et progressivement. A la fin de l'expérience elle est encore notablement inférieure à la normale.

---

(1) Crocq : *Sur le vésicatoire et la saignée.* 1889, Bull. de l'Acad. de médecine de Belgique.

PLANCHE V.

Lapin N° 73. Poids : 1960 grammes.




Etat normal. Injection de 3 centigrammes stypticine. 5 min. après. 25 min. 45 min. Echelle I (correspondant aux graphiques obtenus avant le 23 mars, voir p. 32). Echelle II

Pression réelle = pression indiquée + 10 millimètres.

Début. Fin.

Singe. Poids : 2500 grammes.

Soustraction de 40 centimètres cubes de sang. 5 min. après. 10 min. 15 min. 30 min. 60 min.

Début. Fin.

B) *maximale :* abstraction faite des modifications de l'amplitude, la pression maximale subit les mêmes variations que la pression minimale.

Après avoir étudié les modifications que la saignée apporte dans la circulation, étudions à présent l'action de la stypticine sur cette fonction, la pression étant abaissée par des soustractions de sang.

*Chien.* — 1. Chien. Poids : 5906 grammes. (15—2—1896.)

17 minutes après une saignée de 60 centimètres cubes nous faisons une nouvelle soustraction de 40 centimètres cubes de sang, et 5 minutes plus tard une injection intraveineuse de 5 centigrammes de stypticine.

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la 1re saignée : | 56 en 30 secondes. |
| 5 minutes après » » | 57 » » » |
| 10 » » » » | 53 » » » |
| Avant la 2de saignée : | 54 » » » |
| Avant l'injection de stypticine : | 57 » » » |
| 5 minutes après » » » | 42 » » » |
| 10 » » » » » | 48 » » » |
| 15 » » » » » | 48 » » » |

*Amplitude.* — Diminue par la 2de saignée, augmente notablement pendant l'injection et la 1re minute qui suit, diminue ensuite, devient subnormale pendant quelques minutes, et surnormale après.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse par la saignée, pendant l'injection et la 1re minute qui suit; puis elle se relève, mais n'atteint pas la normale à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* baisse notablement par la saignée; cet abaissement est persistant; la pression se relève par l'injection de stypticine, atteint la pression qui existait avant la 2de saignée et la dépasse même environ 10 minutes après l'injection.

Chien. Poids : 4780 grammes. (20—2—1896.)

4 à 5 minutes après une saignée de 85 centimètres cubes de sang, nous pratiquons une injection intraveineuse de 5 centigrammes de stypticine :

| | |
|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | 53 en 30 secondes. |
| Avant l'injection de stypticine : | 43 » » » |
| 1 minute après » » » | 41 » » » |
| 5 minutes » » » » | 42 » » » |
| 10 » » » » » | 50 » » » |
| 15 » » » » » | 57 » » » |
| 20 » » » » » | 61 » » » |
| 25 » » » » » | 59 » » » |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 30 minutes après l'injection de stypticine : | | | | | 62 en 30 secondes. | | |
| 35 | » | » | » | » | 65 | » » | » |

*Amplitude.* — Augmente pendant la saignée et les premières secondes qui suivent; puis, elle diminue sensiblement. Pendant l'injection et la première minute qui suit, l'amplitude devient surnormale, ensuite de nouveau normale pendant quelques secondes et surnormale jusqu'à la fin.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse par la saignée, pendant l'injection et les premières secondes qui suivent, s'élève et devient surnormale pendant 5 à 10 minutes, normale pendant 10 minutes et très légèrement subnormale ensuite.

B) *maximale :* baisse seulement vers la fin de la saignée, s'élève pendant et après l'injection, atteint la normale 2 à 3 minutes après l'injection, devient surnormale pendant 15 minutes, et normale ensuite.

*Lapin.* — Lapin N° 69. Poids : 2300 grammes. (19—2—1896.)

Après des soustractions sanguines de 20 et de 10 centimètres cubes de sang, nous faisons, 15 minutes plus tard, une saignée de 15 centimètres cubes et quelques secondes après, une injection intraveineuse de 5 centigrammes de stypticine.

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — | Avant la 1re saignée : | | | | | 162 en 30 secondes. | | |
| | Avant la dernière saignée : | | | | | 150 | » » | » |
| | Avant l'injection de stypticine : | | | | | 151 | » » | » |
| 5 minutes après | | » | » | » | | 118 | » » | » |
| 10 | » | » | » | » | » | 124 | » » | » |
| 15 | » | » | » | » | » | 129 | » » | » |
| 20 | » | » | » | » | » | 131 | » » | » |
| 25 | » | » | » | » | » | 133 | » » | » |
| 30 | » | » | » | » | » | 135 | » » | » |
| 35 | » | » | » | » | » | 135 | » » | » |

*Amplitude.* — Augmente par la saignée et surtout pendant l'injection de la stypticine; elle diminue immédiatement après et devient sensiblement inférieure à celle qui existait avant la saignée; cette dernière amplitude est de nouveau atteinte au bout de 10 à 15 minutes.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse notablement par la saignée et pendant l'injection; quelques secondes plus tard, elle s'élève rapidement et fort au-dessus de la normale; vers la fin de l'expérience, la pression est redevenue voisine de celle qui existait avant la saignée.

B) *maximale :* cf. la minimale.

Lapin N° 70. Poids : 2690. (19—2—1896.)

2 minutes après une saignée de 30 centimètres cubes, nous faisons une injection intraveineuse de 5 centigrammes de stypticine.

| | | |
|---|---|---|
| *Fréquence.* — | Avant la saignée : | 144 en 30 secondes. |
| | Avant l'injection de stypticine : | 157 » » » |
| | 5 minutes après l'inject. de stypticine : | 130 » » » |
| | 10 » » » » | 128 » » » |
| | 15 » » » » | 130 » » » |
| | 20 » » » » | 129 » » » |
| | 25 » » » » | 129 » » » |
| | 30 » » » » | 135 » » » |

*Amplitude.* — Diminue par la saignée; augmente pendant l'injection; dès la fin de celle-ci, elle diminue notablement, puis augmente graduellement pour atteindre l'amplitude initiale au bout de 20 minutes.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse fort par la saignée et pendant l'injection; elle se relève ensuite, atteint la normale pendant quelques secondes et retombe très légèrement en dessous de la normale jusqu'à la fin de l'expérience.

B) *maximale :* baisse sensiblement par la saignée et pendant l'injection; s'élève après, mais reste subnormale jusqu'à la fin.

Lapin N° 73. Poids : 1960 grammes. (20—2—1896.) (Voir planche V.)

5 minutes après avoir soustrait 37 centimètres cubes de sang, nous faisons une injection intraveineuse de 3 centigrammes de stypticine.

| | | |
|---|---|---|
| *Fréquence.* — | Avant la saignée : | 142 en 30 secondes. |
| | Avant l'injection de stypticine : | 129 » » » |
| | 5 minutes après l'inject. de stypticine : | 122 » » » |
| | 10 » » » » | 123 » » » |
| | 15 » » » » | 126 » » » |
| | 20 » » » » | 130 » » » |
| | 25 » » » » | 135 » » » |
| | 30 » » » » | 136 » » » |
| | 35 » » » » | 133 » » » |
| | 40 » » » » | 134 » » » |
| | 45 » » » » | 137 » » » |

*Amplitude.* — Diminue pendant la saignée; elle augmente ensuite graduellement et est déjà surnormale avant l'injection. La stypticine augmente encore sensiblement l'amplitude pendant toute l'expérience.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe brusquement pendant la saignée; la chute est persistante, mais la pression se relève lentement. Pendant

l'injection il se produit un nouvel abaissement; dès les premières secondes qui suivent, la pression se relève assez rapidement, mais reste subnormale pendant toute l'expérience.

B) *maximale :* cf. la minimale.

*Chien.* — 1. Chien. Poids : 4650 grammes. (7—4—1896.)

Quelques secondes après une soustraction de 90 centimètres cubes de sang, nous pratiquons une injection hypodermique de 35 centigrammes de stypticine.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la saignée : | | | | 64 en 30 secondes. | | | |
| 5 minutes après l'inject. de stypticine : | | | | 101 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 111 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 105 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 100 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 96 | » | » | » |
| 30 | » | » | » | » | 102 | » | » | » |
| 60 | » | » | » | » | 99 | » | » | » |
| 90 | » | » | » | » | 100 | » | » | » |
| 120 | » | » | » | » | 103 | » | » | » |
| 150 | » | » | » | » | 104 | » | » | » |
| 180 | » | » | » | » | 102 | » | » | » |
| 210 | » | » | » | » | 101 | » | » | » |

*Amplitude.* — Il se produit une augmentation pendant l'injection et les deux premières minutes qui suivent; y fait suite une diminution; dès la 5e minute après l'administration de la stypticine, l'amplitude a notablement dépassé la normale; cet accroissement s'accuse peu à peu, à part une légère diminution pendant 25 minutes, environ 1 heure après l'injection. L'amplitude atteint son maximum 120 minutes après l'administration du médicament; elle décroît ensuite graduellement, et 225 minutes après le début de l'expérience elle dépasse encore notablement la normale.

*Pression.* — A) *minimale :* baisse notablement par la saignée, puis remonte dès les premières minutes qui suivent; au bout de 3 à 4 minutes, par suite de l'augmentation graduelle de l'amplitude, la pression minimale baisse et subit les mêmes modifications, mais en sens inverse, que l'amplitude; à la fin de l'expérience, elle est encore sensiblement subnormale.

B) *maximale :* après un abaissement très marqué à la fin de la saignée, elle s'élève progressivement et atteint la normale environ 120 minutes après l'injection; elle se maintient à ce niveau pendant 30 minutes et baisse ensuite graduellement à cause de la diminution de l'étendue des pulsations.

2. Chien. Poids : 3000 grammes. (8—4—1896.)

Après avoir soustrait à l'animal 90 centimètres cubes de sang, nous injectons immédiatement sous la peau 30 centigrammes de stypticine.

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Fréquence.* — Avant la soustraction : | | | | | 78 | en | 30 | secondes. |
| 5 | minutes | après | l'inject. | de stypticine : | 76 | » | » | » |
| 10 | » | » | » | » | 83 | » | » | » |
| 15 | » | » | » | » | 78 | » | » | » |
| 20 | » | » | » | » | 82 | » | » | » |
| 25 | » | » | » | » | 85 | » | » | » |
| 40 | » | » | » | » | 82 | » | » | » |
| 70 | » | » | » | » | 79 | » | » | » |
| 115 | » | » | » | » | 79 | » | » | » |
| 130 | » | » | » | » | 78 | » | » | » |
| 145 | » | » | » | » | 70 | » | » | » |
| 160 | » | » | » | » | 62 | » | » | » |

Puis, ralentissement graduel jusqu'à la mort, qui survient environ 210 minutes après la saignée.

*Amplitude.* — Augmente au début de la saignée; diminue et devient irrégulière à la fin, et les premières secondes qui suivent. L'amplitude s'accroît ensuite rapidement, abstraction faite d'une faible diminution de quelques secondes, et dépasse déjà la normale dès la 3e minute après l'injection; elle atteint son maximum environ 40 minutes après l'administration de la stypticine et décroît ensuite graduellement jusqu'à la mort.

*Pression.* — A) *minimale :* tombe brusquement par la saignée, à la fin de laquelle elle est presque nulle. Elle se relève ensuite, surtout la 3e et la 4e minute qui suit l'injection et baisse de nouveau graduellement jusqu'à la mort.

B) *maximale :* baisse sensiblement par la saignée ; s'élève graduellement avec l'augmentation de l'amplitude et baisse au fur et à mesure que l'étendue des pulsations diminue. Elle n'atteint la pression initiale à aucun moment.

*Conclusions.* — 1° Les expériences qui précèdent nous prouvent de nouveau que la pression sanguine, tant chez le chien que chez le lapin, ne revient pas immédiatement à la normale après la saignée, mais qu'elle reste subnormale d'une façon prolongée et qu'elle ne se relève que graduellement et lentement.

2° Les injections intraveineuses de stypticine déterminent après soustraction sanguine les mêmes modifications circulatoires que celles

enregistrées au chapitre de la circulation (page 39). Ainsi, la fréquence diminue chez le lapin, augmente chez le chien après un ralentissement passager. L'amplitude augmente au moins pendant quelques minutes.

3° La pression qui a été abaissée par la saignée ne s'élève pas immédiatement sous l'influence de la stypticine; elle revient cependant plus rapidement à la normale et peut même la dépasser ensuite pendant quelques minutes.

4° Les injections hypodermiques de stypticine agissent après la saignée au même titre que les injections intraveineuses. Nous constatons une action manifeste déjà après 5 minutes : le cœur s'accélère (expériences chez le chien); l'amplitude s'accroît et présente les différentes oscillations que nous avons signalées après injection hypodermique sans saignée préalable. La pression minimale baisse d'une façon constante à cause de l'augmentation de l'amplitude. La pression maximale s'élève graduellement, atteint, du moins pendant quelques minutes quand la saignée n'a pas été trop forte, le niveau normal, et baisse ensuite au fur et à mesure que l'amplitude diminue.

### Action sur les vaisseaux et sur l'utérus.

Nous avons terminé ainsi l'étude de l'action de la stypticine sur le cœur et sur son système d'innervation. Il nous reste à rechercher quelle influence cette substance exerce sur le calibre des vaisseaux, et jusqu'à quel point elle nous permet d'interpréter les modifications qui surviennent dans la circulation.

Nous avons déjà dit plus haut que les vaisseaux de la membrane interdigitale de la patte de la grenouille, ainsi que les vaisseaux auriculaires des lapins ne montrent aucune modification sensible après l'administration de n'importe quelle dose de stypticine.

Nous avons, en outre, étudié d'une manière spéciale l'état circulatoire des organes abdominaux par un procédé qui nous a déjà servi antérieurement dans notre étude sur l'hydrastinine.

Nous avons choisi pour ces expériences des lapines pleines afin de pouvoir apprécier à la fois l'action du médicament sur la péristaltique intestinale, sur les contractions utérines, et sur le calibre des vaisseaux mésentériques et utérins.

1. Lapine pleine. Poids : 3105 grammes.

Nous pratiquons la laparotomie à 3 h. 5 minutes. Après quelques contractions, l'utérus se tient presque au repos complet pendant 15 min. A 3 h. 20 minutes nous faisons une injection intraveineuse de 10 centi-

grammes de stypticine. 1 à 2 minutes après l'administration de cette dose, des contractions assez fortes surviennent dans l'utérus. Le calibre des vaisseaux reste invariable. A 4 heures, les contractions persistent encore toujours, mais sont faibles et plus espacées que pendant les 10 à 15 minutes qui ont immédiatement suivi l'injection.

En dehors des contractions, il apparaît une légère congestion; dans tous les cas la constriction vasculaire est absente.

A 4 h. 35 minutes, c'est-à-dire 75 minutes après l'injection, des contractions se montrent encore, mais elles sont très faibles, de peu de durée et très espacées. A 4 h. 55 minutes nous pratiquons une nouvelle injection intraveineuse de 8 centigrammes. Déjà à la fin de l'injection, qui dure environ 30 secondes, les contractions reparaissent intenses et presque continues. Comme celles qui précèdent, elles ont le caractère des contractions physiologiques. 10 minutes plus tard, elles persistent encore intenses, sont prolongées et séparées par de courts intervalles. La péristaltique intestinale, assez forte avant la première injection, semble être renforcée. Les vaisseaux utérins et mésentériques ne se rétrécissent nullement; il y a peut-être une légère vasodilatation.

A 5 h. 25 minutes, les contractions utérines diminuent, mais ne sont pas encore espacées de plus d'une minute.

A 5 h. 50 minutes, nous administrons par une veine auriculaire 15 centigrammes d'ergot de seigle de Bonjean. Cette injection est suivie d'un rétrécissement vasculaire très marqué: les contractions péristaltiques de l'utérus cessent et il apparaît un état de légère contraction tonique.

A 6 h. 5 minutes, nous répétons encore une injection de 8 centigrammes de stypticine. Quelques minutes plus tard il se produit de faibles contractions péristaltiques au niveau de l'utérus. Le retrécissement vasculaire disparaît. A ce moment nous abandonnons l'expérience.

2. Lapine pleine. Poids 2560 grammes.

Après avoir curarisé l'animal et institué la respiration artificielle, nous pratiquons une fenêtre dans la paroi abdominale. A ce moment, la péristaltique intestinale est assez intense; les contractions utérines sont très faibles; l'utérus est congestionné.

Au bout de 15 minutes, nous injectons par une veine jugulaire 8 centigrammes de stypticine. 2 minutes plus tard, des contractions fortes et presque continues surviennent pendant 5 minutes; elles deviennent ensuite rapidement plus faibles et plus espacées.

Aucune modification ne se produit dans les vaisseaux de l'intestin et de l'utérus.

La péristaltique intestinale, forte avant l'injection, persiste.

10 minutes après l'injection, les contractions utérines redeviennent plus fortes et sont moins espacées; la péristaltique intestinale se maintient. Au niveau de ces organes il survient une congestion plus forte. 10 minutes plus tard, les contractions utérines sont encore beaucoup plus intenses qu'avant l'injection. Elles se maintiennent tout en s'affaiblissant jusqu'à la seconde injection intraveineuse de 40 centigrammes de stypticine, que nous pratiquons 1 h. 15 minutes après la première.

Vers le milieu de l'injection qui dure 2 minutes, les contractions utérines reparaissent intenses et presque continues. Ces contractions se maintiennent pendant plus d'une heure et deviennent de plus en plus faibles.

Les vaisseaux utérins et mésentériques paraissent légèrement dilatés.

La péristaltique intestinale conserve au moins son intensité du début.

Environ 3 heures après la 2$^{de}$ administration de stypticine, nous ouvrons l'utérus; nous y trouvons des fœtus ayant dépassé le milieu de la gestation, mais tous morts. La mort n'est survenue qu'au cours de notre observation, puisque nous avons vu à différentes reprises, au travers de la paroi utérine, les fœtus exécuter des mouvements.

Ces deux observations nous permettent donc de conclure 1° que la stypticine n'exerce aucune action constrictive sur le calibre des vaisseaux abdominaux (intestin et utérus); peut-être, produit-elle une légère vaso-dilatation; 2° que la stypticine renforce et accélère les contractions de l'utérus gravide. Puisqu'il se produit plutôt une vasodilatation, cette action n'est pas due à une anémie utérine. Elle ne relève pas non plus des modifications respiratoires et cardiaques puisqu'elle survient à la suite de doses faibles (8 centigrammes, expérience n° 2) dans les cas où nous avons pratiqué la respiration artificielle après curarisation et où nous n'avons enregistré aucune modification de la fréquence, de l'amplitude et de la pression des pulsations artérielles. Cette observation tend, de plus, à démontrer que la stypticine à petites doses peut agir sur les mouvements de l'utérus en gestation avant de provoquer aucune modification dans l'appareil circulatoire.

### Parallèle entre l'action de l'hydrastinine et de la stypticine.

L'étroite parenté chimique de l'hydrastinine et de la stypticine, leurs propriétés physiques et chimiques analogues que nous avons déjà relevées au début de notre mémoire avaient fait supposer à Freund que leurs effets thérapeutiques devaient aussi être semblables. Les observations de Gottschalk, de Gärtig et de Nassauer paraissaient confirmer cette supposition.

Cependant les propriétés thérapeutiques de ces deux médicaments semblent dépendre d'un mécanisme différent. Etablissons-le par l'étude comparée de leur action physiologique. Faisons ressortir en même temps les avantages et les désavantages de chacun d'eux.

### Intoxication aiguë.

*Grenouille.* — La dose mortelle de la stypticine est légèrement inférieure (5-10 milligrammes).

Les deux substances modifient profondément la respiration buccale : elles déterminent un ralentissement qui ne survient, par l'hydrastinine, qu'après une accélération. La respiration devient superficielle et se suspend toujours. Ces modifications apparaissent plus rapidement par la stypticine que par l'hydrastinine. La mort arrive par arrêt de la respiration dans l'une et l'autre intoxication.

Le cœur se ralentit d'emblée par la stypticine; de petites doses d'hydrastinine amènent un ralentissement après une accélération; des doses plus fortes d'hydrastinine déterminent, comme la stypticine, un ralentissement dès le début.

Les troubles moteurs sont dans les deux cas d'origine centrale; la paralysie nous a paru débuter pour la stypticine par les membres antérieurs, pour l'hydrastinine par les postérieurs.

La sensibilité diminue dès le début par la stypticine; cette diminution est précédée d'une hyperesthésie par l'hydrastinine.

Les réflexes diminuent graduellement au fur et à mesure que l'intoxication par la stypticine progresse; ils se conservent mieux et plus longtemps à la suite des injections d'hydrastinine.

A aucun moment de l'intoxication par la stypticine, il n'existe une période d'excitation; l'hydrastinine, au contraire, détermine de l'excitation pendant les premières minutes qui suivent l'injection.

L'intoxication par la stypticine diffère donc de celle par l'hydrastinine, principalement par l'absence de la période d'excitation.

*Lapin.* — Les doses mortelles de stypticine et d'hydrastinine sont sensiblement égales. Pour les deux poisons, la mort survient, après des modifications respiratoires analogues, par arrêt primaire de cette fonction.

A dose isotoxique, la stypticine ralentit le cœur, l'hydrastinine l'accélère.

Contrairement à la stypticine, l'hydrastinine provoque des modifications très sensibles dans le calibre des vaisseaux de l'oreille.

La paralysie musculaire, par la stypticine, débute dans les membres antérieurs d'une façon constante; l'hydrastinine atteint en premier lieu tantôt les membres antérieurs, tantôt les membres postérieurs.

La péristaltique intestinale augmente dans les deux cas.

Pour le lapin, comme pour la grenouille, l'intoxication par la stypticine ne présente pas de période d'excitation, tandis que celle-ci existe au début de l'empoisonnement par l'hydrastinine.

*Chien.* — L'intoxication chez le chien par l'un et l'autre poison est encore plus semblable que chez le lapin. Les deux tuent à la même dose par arrêt de la respiration, produisent l'accélération du cœur, un tremblement général et une augmentation de la péristaltique intestinale. La stypticine seule amène souvent des nausées et des vomissements.

La paralysie musculaire par la stypticine, débute toujours à l'avant-train (muscles extenseurs du cou, membres antérieurs); elle est générale d'emblée par l'hydrastinine.

Ici encore, il survient de l'excitation par l'hydrastinine, tandis que la dépression s'installe directement par la stypticine.

Chez les animaux à sang froid, comme chez les animaux à sang chaud, l'intoxication aiguë par l'hydrastinine ne diffère de celle par la stypticine, abstraction faite des symptômes accessoires, que par une période d'excitation passagère et même relativement peu marquée survenant au début. Comme la stypticine détermine directement la dépression, son action est plus rapidement mortelle. Mais si nous envisageons de plus près les modifications circulatoires par lesquelles on explique l'effet thérapeutique des deux médicaments, on constate des différences très sensibles. Ainsi, nous avons déjà dit plus haut qu'il survient chez les animaux à sang chaud une accélération du cœur par l'hydrastinine et que la stypticine détermine chez le lapin une diminution de la fréquence, une accélération, avec ralentissement préalable par les fortes doses, chez le chien.

L'amplitude des ondes pulsatiles diminue par les doses faibles et moyennes d'hydrastinine; cette diminution est tantôt permanente, tantôt passagère; très rarement, il se produit une augmentation. Les doses mortelles déterminent une diminution à laquelle succède une augmentation notable de l'amplitude à l'approche de la mort. La stypticine amène des modifications d'amplitude différentes qui présentent, chez le chien surtout, quatre périodes : 1° pendant l'injection (intraveineuse) augmentation notable de l'amplitude; 2° les premières minutes qui suivent, diminution marquée : l'amplitude redevient normale, parfois subnormale; 3° augmen-

tation graduelle lente et durable jusqu'à un certain maximum ; 4° diminution progressive et lente vers la normale.

Par les doses non mortelles d'hydrastinine la pression minimale s'élève d'une façon presque constante et permanente ; la pression maximale augmente également ; mais à cause de la diminution de l'amplitude, moins longtemps que la pression minimale. Les doses mortelles produisent d'emblée un abaissement de la pression minimale avec une élévation tout-à-fait passagère de la pression maximale.

Les doses non mortelles de stypticine, au contraire, provoquent au début un abaissement très sensible (injections intraveineuses) de la pression minimale. A cette chute, succède un relèvement rapide ; la pression devient normale et surnormale pendant quelques minutes, puis elle devient subnormale par suite de l'étendue des ondes pulsatiles. La pression maximale s'élève bien moins que par les injections d'hydrastinine ; cette élévation survient, abstraction faite du moment de l'injection, plus tardivement, mais elle est beaucoup plus persistante ; elle se maintient des heures, grâce à l'augmentation de l'amplitude.

Quand on abaisse au préalable la pression par des saignées, l'hydrastinine, tant en injection intraveineuse qu'hypodermique, ramène rapidement la pression au niveau primitif et l'élève même notablement en quelques minutes au dessus de la normale. La stypticine, par contre, qu'on l'administre par la voie hypodermique ou intraveineuse ne ramène pas immédiatement la pression à la hauteur initiale, mais seulement après un temps prolongé ; et encore, la pression normale est rarement atteinte, exceptionnellement elle est dépassée.

La différence d'action des deux médicaments ressort manifestement de ces faits : l'hydrastinine agit rapidement, elle est un stimulant cardiaque, et peut être conseillée à l'instar de l'éther et du camphre dans les anémies aiguës graves. La stypticine possède une action plus lente mais aussi plus prolongée ; elle est plutôt tonique et par là s'expliquerait son action favorable dans des affections utérines chroniques, dans les stases veineuses par exemple, qui sont très souvent la cause des métrorrhagies.

La stypticine, comme l'hydrastinine, renforce et éveille peut être les contractions utérines. Mais l'hydrastinine provoque, en outre, le rétrécissement des vaisseaux utérins (et mésentériques), tandis que la stypticine ne modifie pas ou plutôt augmente la lumière de ces vaisseaux.

Quant au mode d'action, l'hydrastinine agit, d'après nous, à la fois sur le cœur, le centre vasomoteur de la moelle allongée et sur les parois

vasculaires; la stypticine semble agir presque exclusivement sur le muscle du cœur. Tous deux stimulent les contractions utérines.

Pour terminer, disons un mot des indications de l'un et de l'autre médicament : comme indication commune, nous pouvons citer les affections utérines compliquées d'hémorrhagies où les contractions utérines sont une condition indispensable à l'hémostase (hémorrhagie après la délivrance, rétentions placentaires, etc.); toutefois, nous croyons que l'hydrastinine doit être préférée, puisqu'elle joint à son pouvoir oxytocique des propriétés vasoconstrictives, et réunit ainsi toutes les conditions favorables à l'arrêt de l'hémorrhagie. Dans les affections chroniques dépendant essentiellement de troubles circulatoires, nous recommanderions la stypticine parce que celle-ci exerce sur le cœur une action tonique bien plus prolongée que l'hydrastinine, qui doit être considérée plutôt comme un stimulant. Mais l'hydrastinine agissant plus rapidement et plus énergiquement doit être administrée de préférence à la stypticine dans les cas d'anémie aiguë grave où une intervention prompte peut seule sauver la vie.

*Gand, le 30 Juin 1898.*

MITTHEILUNG AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUTE DER KÖN. UNG. THIERÄRZTLICHEN AKADEMIE.

# Künstliche Erzeugung der Gicht durch Gifte

VON

PROF. J. VON KÓSSA.

Es ist bekannt, dass sich bei Thieren, deren Blut reich an Uraten ist (Vögel, Reptilien) bei Erschwerung oder vollkommener Behinderung der Harnsecretion an den verschiedensten Stellen des Körpers, insbesondere an den serösen Häuten, jedoch nicht blos hier, sondern so zu sagen in sämmtlichen Geweben des Körpers, Urate sich in Krystallform ablagern. Auf experimentellem Wege wurde dieser Zustand zum ersten Mal von GALVANI (1766) erzeugt, indem er Hühnern beide Ureteren unterband. Bei der Section der Thiere fand er, dass sich an den serösen Häuten, insbesondere am Pericardium und an der Leberkapsel, ein weisser, erdiger, gypsaehnlicher Niederschlag abgelagert hatte, dass die Läppchen der Nieren mit einer gleichen weissen Masse ausgefüllt waren, « die zweifellos aus nichts Anderem als den festeren, dichteren Bestandtheilen des Harnes besteht » (1).

(1) Die Beschreibung GALVANI's ist so classisch und für seine Zeit so erschöpfend, dass ich es der Mühe wert finde, dieselbe wörtlich zu citiren : « Ejus cadavere dissecto *alba terrestris materia* conspicitur, quae omnes ferme partes coinquinat, atque membranas potissimum, inter quas praesertim pericardium, quod gypseum evasisse videtur atque extima hepatis membrana. Renes lobos praeseferunt alba materia repletos, quam non est dubitandum urinae fuisse crassiorem solidioremque partem. » Cit. von EBSTEIN : *Die Natur und Behandlung der Gicht* (Wiesbaden, 1882, Seite 55), wo die gesammte Literatur dieser Frage erschöpfend zusammengestellt ist.

Nach GALVANI sind diese Versuche von zahlreichen Autoren (ZALESKY, VON SCHRÖDER, PAWLINOFF, EBSTEIN, etc.) an Schlangen, Hühnern, Tauben mit dem gleichen Resultat wiederholt worden. EBSTEIN, der diese bei Vögeln wahrnehmbare Uratstauung auch in histologischer Beziehung sehr eingehend studirte, fand im Verfolge seiner auf die Pathogenese der Gicht bezüglichen, umfangreichen Forschungen, dass man nicht blos durch die Unterbindung der Ureteren, sondern auch durch subcutane Injectionen neutraler chromsaurer Salze, insbesondere des Kaliumchromats bei Hähnen einen ähnlichen Zustand erzeugen kann, falls man das chromsaure Salz durch längere Zeit in kleinen Dosen anwendet. Ich selbst konnte mich in zahlreichen Fällen von der Richtigkeit dieser Beobachtungen theils bei meinen eigenen Versuchen, theils bei der Versuchsreihe überzeugen, welche Dr A. V. MEISELS(1) im pharmakologischen Institut der hiesigen Universität anstellte. Zahlreiche andere, theils mit anorganischen, theils mit organischen Verbindungen ausgeführte Experimente überzeugten mich, dass eine derartige Wirkung der chromsauren Salze bei Vögeln nicht als specifisch anzusehen ist, dass es vielmehr noch mehrere andere Mittel von ganz heterogener chemischer Beschaffenheit giebt, welche bei Hähnen und Tauben eine Uratstauung zu bewirken vermögen. Dieser krankhafte Zustand entwickelt sich zwar nicht immer in dem gleichen Grade, wie nach Unterbindung der Ureteren (wie derselbe sich auch nach Vergiftung mit chromsauren Salzen bei den verschiedenen Versuchstieren in ungleichem Maasse äussert); ich konnte jedoch in jedem Falle die intensive Infarcirung der Harnwege der Niere mit Uraten wahrnehmen, wenn das Thier nach Injection des Giftes längere Zeit hindurch am Leben blieb.

## I. OXALSÄURE.

Die Wirkung der Oxalsäure bei Säugethieren war sowohl in biologischer als histologischer Beziehung Gegenstand ziemlich eingehender Arbeiten. Die Untersuchungen von KOBERT und KÜSSNER, FRÄNKEL, MÜRSET, KROHL, KOCH und NEUBERGER(2) beziehen sich jedoch blos auf Säugethiere, während die Vögel, deren Physiologie und Pathologie noch so vieler Studien harrt, vernachlässigt wurden. Die Versuche an Säugethieren beweisen, dass die Oxalsäure in erster Reihe die Nieren afficirt, indem sie so zu sagen in allen Theilen derselben schwere Veränderungen

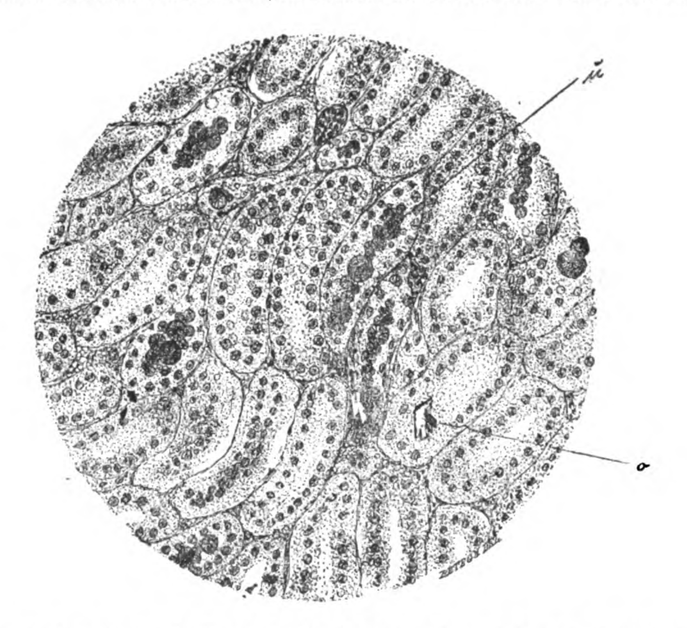
(1) MEISELS: *Versuche mit Piperazin und anderen uratlösenden Mitteln.* Ungarisches Archiv für Medicin, 1892, 6. Heft.

(2) Die Literatur s. bei KOBERT: Handbuch der Intoxicat., Stuttgart, 1893, S. 219.

setzt. In Fällen chronischer Vergiftung schwillt das Epithel der Glomeruli und der Bowmanschen Kapseln an, es löst sich ab und zwischen beiden häuft sich ein aus Exsudat und desquammirtem Epithel bestehender, homogener Niederschlag an; das Epithel der gewundenen Kanälchen ist stellenweise nekrotisch, stellenweise geschwellt, im Inneren desselben Vacuolenbildung und spärliche Kerne. Im Lumen der Kanäle sind häufig körnige Massen und sehr blasse, hyaline Cylinder zu finden. Auch das Epithel der Sammelkanäle färbt sich schlecht, und im Stroma ist stellenweise besonders um die grossen Gefässe Zellinfiltration sichtbar. In den Nierenkanälen schlägt sich in grosser Menge oxalsaurer Kalk nieder, theils in Form weniger gehäufter Nadeln, welche an Tyrosin erinnern (Kobert und Küssner) und welche das Lumen der Kanäle vollkommen ausfüllen können; theils in Form ovaler, selbstständiger Scheiben (Sphaeroide) oder den Sanduhren aehnlicher Gebilde, welche auch im Protoplasma der Epithelzellen vorkommen (Mürset), während die Glomeruli stets frei bleiben (Fränkel, Neuberger); die Briefcouvertform, welche bekanntlich im Urin regelmässig auftritt, ist merkwürdiger Weise nicht aufzufinden.

Ich habe meine Versuche mit Oxalsäure und oxalsaurem Natrium theils an Tauben, theils an Hähnen vorgenommen, indem ich wässerige Lösungen recht tief in den Brustmuskel einspritzte; tief darum, weil bekanntlich die Haut nach oberflächlichen Injectionen am Orte der Einspritzung bei Vögeln leicht nekrotisiert. Zu den Versuchen verwendete ich in den meisten Fällen das oxalsaure Natrium, welches von den Thieren gut vertragen wird, falls wir die der chronischen Vergiftung entsprechende, geringe Dosis herausfinden. Die Nieren solcher chronisch vergifteter Hähne sind blass gelblich-grau, thonfarben, sie zeigen an ihrer Oberfläche zahlreiche, nadelstichartige, weisse, am Durchschnitt weisse, radiärverlaufende Streifen, in Form von Adern. Diese weissen Streifen und der thonartige Überzug sind in vielen Fällen auch an der Oberfläche der Eingeweide wahrzunehmen, am parietalen und visceralen Blatt des serösen Überzugs derselben, und sind sie von diesen Stellen leicht abzustreifen oder mit Wasser wegzuschwämmen. In der Gallenblase ist sehr viel Galle und dieser beigemengt ein weisser Niederschlag. Die äussere Oberfläche der Dünn- und Dickdärme ist in ihrer ganzen Ausdehnung mit einem silberweissen, glänzenden Ueberzug versehen, auch am Mesenterium sind aehnlich gefärbte Flecke. Am Zungenrücken und in den Gelenken, insbesondere an der Synovia des Kniegelenkes, namentlich der Patella entsprechend, ist manchmal ein überaus reichlicher, dem vorher beschriebenen vollkommen gleicher Niederschlag zu sehen.

Die mikroskopische Untersuchung, die ich vornahm, bezog sich hauptsächlich auf die Nieren. Die Kerne des Nierenepithels färben sich fast überall schlecht, sie sind nekrotisch; an einzelnen Stellen sind Kerne überhaupt nicht sichtbar oder sie sind blos in Trümmern in den Epithelzellen vorhanden. Auffallend ist jedoch, dass in dem einen oder anderen Tubulus neben winzigen, atrophischen Kernen ganz gesunde, grosse Kerne zu finden sind. Sämmtliche Epithelzellen sind stark gekörnt, ihre Contouren nur an einzelnen Stellen sehr verschwommen sichtbar; in manchem Kanälchen ist das Epithel in Desquammation begriffen. Das interstitielle Bindegewebe ist nicht vermehrt; stellenweise Rundzelleninfiltration. Die



Glomeruli sind grösstentheils normal. Neben diesen Zeichen der acuten Nephritis parenchymatosa fällt es auf den ersten Blick auf, dass das Lumen der Harnkanälchen von einer grossen Menge Krystalle ausgefüllt wird, welche von sehr verschiedener Grösse und scheibenförmig sind, eine radiale Streifung zeigen und häufig doppelte Contouren besitzen, (siehe Abbild. *u*) Man kann deutlich unterscheiden, dass diese Krystalle nicht in den Epithelzellen, sondern im Lumen der Kanäle sich befinden; in den Glomeruli gelang es mir hingegen nicht, ein einziges Mal solche Krystalle zu entdecken. Die Zahl der Krystalle ist ausserordentlich gross, so dass in den Nieren von Thieren, die nach durch längere Zeit sich hinziehender Vergiftung zu Grunde gegangen sind, auch bei verschiedener Einstellung des Mikromillimeters sämmtliche Harnkanälchen des Ge-

sichtsfeldes mit denselben vollgepfropft sind. Abgesehen von der Nierenentzündung erklärt schon dieser Umstand zu Genüge jene hochgradigen Störungen des Organismus, welche als Folgen der Stauung des Harnes nur zu bald, fast in sämmtlichen Geweben des Körpers, wahrnehmbar werden. Die Krystalle stimmen mit Bezug auf ihre Gestalt vollkommen mit den beim Harnsäureinfarct der Neugebornen in den Nieren vorhandenen Krystallen überein(1), desgleichen mit den Krystallen, welche EBSTEIN in den Organen des Hahns bei Chromsäurevergiftung fand. Zweifellos sind diese Krystalle Urate, u. a. Krystalle von harnsaurem Natrium. Giebt man die Schnitte in Wasser, so werden die Krystalle binnen kurzer Zeit vollkommen gelöst und an ihrer Stelle bleiben schlecht farbbare, nekrotische Gewebsbestandtheile zurück. Darum muss man während der ganzen Procedur der histologischen Untersuchung den Gebrauch wasserhaltigen Alkohols oder wasserhaltiger Farbstoffe vermeiden, und darf man blos absoluten Alkohol, alkoholische Fuchsinlösung, Safranin u. s. w. benützen. Auch auf chemischem Wege ist es leicht zu beweisen, dass diese Krystalle Urate sind, indem man die Nieren (womöglich deren Rindensubstanz) mit einer Scheere in sehr kleine Stücke zerschneidet und dann behufs Entfernung des in den Harnkanälchen zurückgebliebenen Harnes zwischen Fliesspapier wiederholt auspresst und vollkommen trocknet, den Rest insgesammt mit heissem Wasser extrahirt, filtrirt und das Filtrat mit Salzsäure schwach ansäuert. Bei diesem Verfahren werden nach 1 bis 1 $^1/_2$ stündigem Stehen aus der Flüssigkeit schöne, glänzende Harnsäurekrystalle ausgeschieden, welche unter dem Mikroskop die charakteristische Wetzsteinform darbieten und die Murexidprobe geben. Auch an den Schnitten entwickeln sich dieselben Krystalle, wenn wir denselben mit Salzsäure schwach angesäuertes Wasser (10 C.C. Wasser + 2 Tropfen 10 % Salzsäure) hinzufügen. In letzterem Falle lösen sich die Krystalle zunächst ohne zu schäumen auf, sie werden blass, bekommen doppelte Conturen und wandeln sich zu rundlichen, durschsichtigen, sehr blassen Gebilden um, endlich verschwinden sie ganz und an ihrer Stelle treten nach einigem Stehen die charakteristischen Harnsäurekrystalle auf und zwar in der Regel nicht einzeln, selbstständig, sondern in aus zusammengewachsenen Krystallen bestehenden Gruppen.

Zu bemerken ist, dass ähnliche scheibenförmige Uratkrystalle bei Vögeln (wenigstens bei Tauben) im Nierenbecken, den Ureteren und der

(1) S. ZIEGLER : Lehrbuch der allgem. Pathologie, Jena, 1898, S. 241.

Cloake stets zu finden sind; jene weisse, fadenziehende, halbflüssige Masse, welche die Ureteren in ihrer ganzen Länge ausfüllt, besteht sogar zum grossen Theil aus solchen Uratmassen; hingegen sind in den Nierenkanälchen bei gesunden Nieren solche Krystalle niemals zu finden.

Dass diese Uratstauung thatsächlich durch die Oxalsäure verursacht wird und nicht etwa durch das zu ihrer Lösung verwendete destillirte Wasser (was übrigens a priori höchst unwarscheinlich schien), davon konnte ich mich durch Controlversuche, indem ich durch 5 Tage täglich 10 gr. destillirtes Wasser in den Brustmuskel injicirte, überzeugen.

In den Nieren der durch oxalsaures Natrium vergifteten Hähne sind ausser den Uratkrystallen in grossen Mengen oxalsaure Calciumkrystalle zu finden. Diese Krystalle sind zum kleineren Theil an der Spitze mit Pyramiden versehene viereckige Säulen (siehe Abbild. *o*) oder biscuit- und sanduhrförmig, zum grössten Theile jedoch gruppirte, rosettenförmige Zwillingskrystalle; dass sie thatsächlich aus oxalsaurem Kalk bestehen, beweist auch der Umstand, dass sie in Wasser und Essigsäure unlöslich, hingegen in Salzsäure löslich sind.

In Fällen chronisch verlaufender Vergiftungen ist das harnsaure Natrium nicht blos in Form der beschriebenen Scheiben, sondern auch in Form nadelförmiger Krystalle in den Geweben zu finden. Diese Krystalle stimmen mit Bezug auf ihre Form vollkommen mit denjenigen überein, welche CORNIL, RANVIER und EBSTEIN in den oberflächlichen Schichten der Gelenksknorpel der Gichtkranken fanden und welche zweifellos aus harnsaurem Natrium bestehen(1). Diese Krystalle treten insbesondere dann in den Nieren und anderen Geweben in grösserer Quantität auf, wenn die Vergiftung einen sehr langsamen Verlauf nahm und an den serösen Häuten auch der erwähnte gypsartige Uratüberzug auftrat. Besonders ausgeprägt sah ich diese Krystalle in einem Falle chronischer Vergiftung mit Rohrzucker, namentlich waren sie an der Oberfläche der Bauchhaut in grosser Zahl und schön entwickelt. Diese nadelförmigen Krystalle sind sehr fein, zart und leicht biegsam, zu strahlenförmigen Bündeln gruppirt. Sind diese Krystalle in sehr grossen Mengen vorhanden, was ich ebenfalls bei Zuckervergiftung am Brustfell beobachtete, so sind die einzelnen Krystalle nicht gut auszunehmen und praesentiren sie sich bei geringer Vergrösserung blos als verschwommen begrenzter, opaker Fleck an der Stelle, wo sie eben angehäuft sind.

---

(1) Ihre Abbild. s. bei ZIEGLER, l. c., S. 236. (93. Abbild.), ferner bei EBSTEIN, l. c., I. Tafel, Fig. 6, 7, 8.

Das Vorkommen dieser nadelförmigen Krystalle und dieser scheibenförmigen Urate wurde bereits von mehreren Autoren bei der idiopathischen Arthritis uratica der Vögel, einer bei diesen Thieren eigentlich ziemlich seltenen Affection, beobachtet. Die aelteren Beobachter sahen diese Krystalle theils für reine Harnsäure, theils (die scheibenförmigen, braunen Krystalle) für Leucin, theils (die nadelförmigen) für Tyrosin an. So lese ich bei ZÜRN(1), dass FRIEDBERGER im Tophus des Fussgelenkes einer gichtkranken Truthenne unter dem Mikroskope aus zarten nadelförmigen Krystallen zusammengesetzte Scheiben sah, welche er als reine Harnsäure ansprach. In einem anderen Falle fand PAULICKY (1872) in der Leiche einer Taube an deren Luftsäcken, ferner an der Oberfläche der Leber, der Eingeweide, der Milz, der Lungen, des Herzens aus *Leucin* und *Tyrosin* bestehende dicke, weisse, membranenförmige Auflagerungen(2). Nach dieser Beschreibung muss ich es als zweifellos ansehen, dass er die scheibenförmigen braunen Urate für Leucin, die nadelförmigen Urate für Tyrosinkrystalle ansah. Merkwürdig ist es, dass bei der grossen Neigung der Vögel zur Gicht diese Krankheit trotzdem so selten bei ihnen zur Beobachtung kommt. In der Literatur fand ich, abgesehen von der EBSTEIN'schen Chromsäuregicht, blos einen Fall von durch Vergiftung bei einem Vogel zustandegekommener Gicht in dem Buche von ZÜRN beschrieben. In dem beschriebenen Fall verursachte ein mit *Ustilago maidis* inficirtes Futter beim Haus-Geflügel einen Krankheitszustand, welcher der durch Vergiftung erzeugten Gicht volkommen glich(3).

EBSTEIN sieht die bei Vögeln auf experimentellem Wege zustandekommende Gicht in anatomischer Beziehung als identisch an mit der Gicht des Menschen, denn auch bei der Gicht der Vögel entstehen an der Stelle der Uratdeposita und im angrenzenden Gewebe nekrotische Heerde und in der Nähe dieser Heerde entsteht eine oft sehr heftige, reactive Entzündung, in Form einer kleinzelligen Infiltration; all das kann ich auf Grund eigener Beobachtungen bestätigen. Wenn wir z. B. die

(1) ZÜRN : *Die Krankheiten des Hausgeflügels.* Weimar, 1882, S. 213.

(2) PAULICKY : *Beitr. z. vergl. path. Anatomie.* Berlin, 1872, S. 152. — Weitere Angaben bezüglich der Gicht der Vögel, bei EBSTEIN, l. c., S. 52—54.

(3) ZÜRN, l. c. S. 187 : « Sämmtliche serösen Flächen und Uebergänge der Bauchhöhle und der Organe waren mit einem grauweissen, staubförmigen, theils zusammenhängenden Belag bedeckt, der lediglich aus *Harnsäure*(?)-Krystallen bestand. Die Gelenke, und das dieselben umgebende Bindegewebe sollen ebenfalls solche Krystalle haben beobachten lassen ». Bericht über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen. 1879.

Nierenschnitte in Wasser stehen lassen, damit in denselben die Krystalle vollkommen gelöst werden, so bleibt an deren Stelle ein scharf umschriebener, sich schlecht färbender, nekrotischer Heerd zurück.

Einen aehnlichen Zustand von Gicht konnte ich beim Hahn und bei der Taube auch durch chronische Vergiftung mit anderen in chemischer Beziehung von einander vollkommen verschiedenen Stoffen erzeugen; dem entsprechend kann man das Auftreten der Urate in den Nieren nach Darreichung von Oxalsäure ebenso wenig als charakteristisches Zeichen für die Vergiftung ansehen, wie die Kalkinfarcte, welche in den Nieren der Säugethiere nach Darreichung verschiedener Gifte (Aloin, Sublimat, Bismuthsalze, etc.) auftreten. Die Protokolle meiner übrigen Versuche (auch derjenigen, welche ein negatives Resultat ergaben), will ich nur kurz mittheilen und die detaillirte Beschreibung der histologischen Veränderungen weglassen, da dieselben im Grossen und Ganzen ohnehin mit den bei Oxalsäurevergiftung wahrgenommenen übereinstimmen.

## II. — Carbol.

*Versuch.* Am 31 März vormittags werden einer 250 gr. schweren Taube 0,025 gr. Carbol, in einem Gramm Wasser gelöst, in den Brustmuskel eingespritzt. Kurze Zeit nach der Einspritzung treten continuirliche, clonische Krämpfe und allgemeine Muskelschwäche auf. Am 4-ten, 5-ten, 6-ten, 7-ten, 8-ten April abermalige 0,025 gr. Phenol. Am 8-ten April in der Nacht Exitus. Auf dem Durchschnitt der Nieren sieht man in den Harnkanälchen zahlreiche sehr schön entwickelte scheibenförmige Uratkrystalle.

## III. — Resorcin.

Bei einer Taube, welche durch 16 Tage täglich 0,025 gr. Resorcin bekam, gelang es mir nicht einen gichtartigen Zustand zu erzeugen.

## IV. — Rohrzucker.

*Versuch.* In den Brustmuskel eines 1145 gr. schweren Hahnes werden am 29. Jäner 0,2 gr. Rohrzucker in einem Gramm destillirten Wassers gelöst eingespritzt. Vom 30. Jäner bis 24. Feber wird täglich die gleiche Menge Rohrzucker eingespritzt. Vom 25-28. Feber werden täglich 0,4 gr. Zucker injicirt. Körpergewicht am 1. März 1053 gr. Das Thier wird an diesem Tag durch Nackenstich getötet. Auf dem Durchschnitt der Nieren zahlreiche scheibenförmige, radial gebaute, doppelt conturirte, stellenweise nadelförmige Krystalle.

## V. — Traubenzucker.

*Versuch.* Eine mittelschwere Taube bekommt am 6. Mai 3 gr. Dextrose in 3 gr. Wasser gelöst in den Brustmuskel injicirt. Nach der Einspritzung sehr matt, sitzt fortwährend an einer Stelle, streubt die Federn. Am 8. Mai neuerdings 3 gr.; stirbt im Laufe der Nacht. Nieren blass graulich roth, an der Durchschnittsflache glänzend weisse

Streifen sichtbar. Aus den Nieren bereitete Schnitte zeigen dasselbe Bild wie bei mit Rohrzucker behandelten Thieren.

Die Zuckerarten erzeugen demnach beim Geflügel dieselbe Art der Gicht, wie die Oxalsäure. Dieser Zusammenhang zwischen der Wirkung der Oxalsäure und des Zuckers ist um so interessanter, als bekanntlich im Harn der Diabetiker oft Oxalursäure zu finden ist (deren Wirkung der der Oxalsäure analog ist) und umgekehrt bei Oxalsäurevergiftung Zucker im Harn auftritt.

Dass die Zuckerarten auch bei höher organisirten Thieren eine Nitrogen- und Uratretention bewirken, beweisen die Versuche HORBACZEWSKY und KANERA's(1) am Menschen. Sie fanden, dass der Mittelwert der Stickstoff- und Uratausscheidung beim Menschen, wenn man ihm täglich 100—350 gr. Rohrzucker reicht, durchschnittlich um 8,8 % abnimmt. Sowie die Darreichung des Rohrzuckers aufhörte, fing die Harnsäureausscheidung sofort an sich zu steigern und nach einigen Tagen erreichte sie wieder die Norm.

Die gichterzeugende oder gichtbefördernde Wirkung des Zuckers wird auch durch andere Daten gestützt. Der Diabetes des Menschen ist nämlich nicht selten durch Ausscheidung von Harnsand, Harngries oder durch Bildung harnsaurer Steine complicirt(2). Es ist möglich, dass die Zuckerarten auch dadurch in diesem Sinne wirken, dass sie die Leber afficiren und die Harnsäure oxydirende Fähigkeit dieses Organes herabsetzen.

Übrigens können wir das Zustandekommen jener Gicht, welche beim Geflügel nach Darreichung von Zucker entsteht, auch auf Grund anderer Beobachtungen zu Genüge erklären. Ich habe nämlich die Erfahrung gemacht, dass die verschiedenen Zuckerarten Kaninchen und Vögeln unter die Haut gespritzt schon in relativ geringen Dosen eine Nephritis erzeugen. Auf meine diesbezüglichen Versuche gedenke ich an anderer Stelle zurück zu kommen.

## VI. — GUMMI ARABICUM.

*Versuch.* Einem 1415 gr. schweren Hahn wurden am 12. Feber 4 gr. Gummi arab. in 20 gr. warmen Wassers gelöst in den Brustmuskel gespritzt. Dieselbe Dosis wurde

(1) HORBACZEWSKY und KANERA : *Ueber den Einfl. von Glycerin, Zucker und Fett auf d. Ausscheidung d. Harnsäure beim Menschen.* Sitzungsberichte d. Wien. Akad. B., 106. — VIRCHOW-HIRSCH's Jrb. 21, I, 160.

(2) NEUMEISTER : Lehrb. d. physiol. Chemie. S. 754.

am 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28ten Feber, ferner am 2, 4, 6ten März wiederholt. Am 7ten März durch Verblutung getötet. Bei der Section erweisen sich die Nieren gleichmässig braunroth, an der Schnittfläche weder weisse Streifen noch Uratkrystalle zu sehen. Dieser Repræsentant der Polysaccharide ist demnach nicht im Stande, beim Hahn Gicht zu erzeugen.

## VII. — ACETON.

*Versuch.* Am 25ten Feber um 12 Uhr 20 Minuten Mittags wurden einer Taube 0,5 gr. Aceton in den Brustmuskel gespritzt; am anderen Tag dito, am 27. Feber um 10 Uhr vormittags Exitus. Am Durchschnitt der Nieren sind kugelförmige Uratkrystalle zu sehen.

## VIII. — DIURETIN.

*Taube* (215 gr.). Am 17ten April 0,10 gr. Diuretin in 2 c.c. Wasser in den Brustmuskel. Nachmittags Exitus. Am Durchschnitt der Nieren, besonders in der Rindensubstanz sind die Harnkanälchen angefüllt mit winzigen scheibenförmigen Krystallen; an den übrigen Theilen der Niere sind nur zerstreut einzelne kleinere Krystalle zu finden.

In einem zweiten Versuche mit chronischer Vergiftung einer Taube durch 12 Tage war der Nierenbefund vollkommen negativ.

## IX. — ALOIN.

*Taube* (245 gr.). Am 27ten Mai 0,05 gr. Aloin, ebenso in den darauffolgenden Tagen. Am 31ten Mai tot. Die Nieren rötlich grau; in deren Gewebe zahlreiche aus scheibenförmigen Uratkrystallen bestehende Massen.

## X. — SUBLIMAT.

*Taube* (340 gr.). Am 12ten April 0,01 gr. Sublimat in den Brustmuskel. Vom 13 bis 17. April täglich 0,02 gr. Am 18ten tot. In den Nieren zahlreiche aus scheibenförmigen Uraten bestehende Krystallgruppen.

## XI. — BISMUTHUM SUBNITRICUM.

*Taube.* Am 29ten April 0,10 gr. Bismuthum subnitric. in Wasser suspendirt. Vom 30. April bis 2. Mai dito. Vom 3 bis 6ten Mai täglich 0,2 gr. Am 7ten Mai wurde das Thier getötet. Auf dem Durchschnitt der Nieren sind keine Urate zu sehen.

## XII. — KOCHSALZ.

Das Ergebnis der an Tauben mit Kochsalz ausgeführten Versuche war ein negatives.

*Aus obigen Versuchen erhellt, dass nicht blos die chromsauren Salze* (EBSTEIN) *sondern auch die Oxalsäure und ihre Salze, die Zuckerarten, Carbol, Aceton, Aloin, Sublimat und, aus älteren Beobachtungen zu schliessen, wahrscheinlich auch die*

*Ustilago maidis im Stande sind bei Vögeln eine gleiche Uratretention zu erzeugen, wie sie nach Unterbindung der Ureteren zu beobachten ist*(1).

Wenn wir eine Erklärung dieser toxisch entstandenen Gicht zu geben versuchen wollen, so stehen wir denselben Schwierigkeiten gegenüber, welchen wir der Pathogenese der harnsauren Diathese begegnen. Wenn man aus diesen Versuchen einen Schluss mit Bezug auf die allgemeine Aetiologie ziehen darf, so dürfen wir getrost diejenige Hypothese (PFEIFFER) verwerfen, welche als Ursache der Gicht annimmt, dass die Harnsäure im Blute in irgend einer schwer löslichen und leicht fällbaren Modification circulirt; weiters auch die Hypothese, wonach die Ursache der gichtischen Deposita in der Wirkung eines localen Ferments zu suchen sei (v. NOORDEN), denn es ist nicht anzunehmen, dass Stoffe von so heterogener chemischen Beschaffenheit alle die gleiche derartige Wirkung üben würden. Auch daran ist nicht zu denken, dass alle diese Gifte die Harnsäure (beziehungsweise die Urate) aus ihren Lösungen fällen würden, wovon mich meine mit Zucker etc. *in vitro* ausgeführten Experimente überzeugten. Da die Gicht nach Darreichung der Zuckerarten beim Geflügel in besonders ausgeprägter Form auftritt, wurde ich durch den genannten Umstand auf den Gedanken gebracht, dass vielleicht die übrigen chemischen Verbindungen blos indirect dadurch die Uratstauung verursachen, dass sie die Thiere diabetisch machen. Die Berechtigung dieser Annahme wurde noch erhöht durch die bereits erwähnte, am Menschen gemachte Erfahrung, der zufolge der Diabetes nicht selten mit Harnsandentleerung und Bildung von Uratsteinen anhebt. Bei mit Chromsäure vergifteten Hühnern fand ich jedoch niemals eine Glycosurie, trotzdem die Chromsäure eines derjenigen Gifte ist, welche diesen

(1) Ich muss hier bemerken, dass beim Geflügel nicht blos die Unterbindung der Ureteren, sondern wahrscheinlich auch ganz anders geartetete operative Eingriffe im Stande sind eine Uratretention zu bewirken. In einem an einer Henne angestellten Experimente exstirpirte ich nämlich nach vorausgegangener Unterbindung sämmtlicher Aeste der Art. pancreatico-duodenalis das Pankreas. Das Thier verendete am nächsten Tag wahrscheinlich in Folge von Nachblutung und ich fand in den Harnkanälchen einen so ausgedehnten Uratinfarct wie bei keiner der aufgezählten Vergiftungen und dass sich diese typische Gicht nicht in vollem Masse entwickelte, liegt blos daran, dass der Tot des Thieres vor der Zeit eintrat. Mit Rücksicht auf die Erforschung der Ursache dieser Uratretention wären weitere Experimente anzustellen. Es ist nicht wahrscheinlich, dass der Verlust des Pankreas, die Uratretention verursacht hat, denn ich fand in den Arbeiten derjenigen Autoren, welche Pankreasexstirpationen in grosser Zahl ausführten, keine Erwähnung von einem solchen Befund; vielleicht spielte die beginnende Darmnekrose oder die Kotstauung oder der Blutverlust eine Rolle als aetiologisches Moment.

gichtischen Zustand am ausgeprägtesten zu erzeugen vermögen. *Nach alledem bleibt als einfachste und natürlichste Erklärung der toxischen Gicht des Geflügels nichts als die Nephritis übrig, deren ausgeprägten Formen ich in der grössten Zahl meiner Experimente begegnete,* die im Verein mit der Nekrose des Nierenparenchyms ebenso zur Behinderung der Ausscheidung der Urate führt, wie die einfache Unterbindung der Ureteren(1). Es ist möglich, dass das eine oder das andere dieser Gifte zugleich eine erhöhte Harnsäureproduction verursacht; die Entscheidung darüber wäre jedoch weiteren Untersuchungen vorbehalten. Wahrscheinlich spielen bei der Erzeugung des gichtischen Zustandes wie beim Menschen so auch beim Geflügel unbekannte individuelle Einflüsse eine Rolle, denn ich hatte oft Gelegenheit mich zu überzeugen, dass sich trotz vollkommen übereinstimmenden Versuchsbedingungen bei einzelnen Thieren die Gicht in viel geringerem Masse entwickelte als bei anderen; namentlich fehlte oft der gypsartige Uratüberzug der serösen Membranen (hingegen war der Infarct der Nieren immer wahrzunehmen).

Die Chromsäuregicht des Geflügels ist durch *Piperazin* heilbar. In dieser Richtung hat V. MEISELS Experimente gemacht (1892), in welche ich selbst einen Einblick zu nehmen Gelegenheit hatte und ich kann bestätigen, dass sich die Gicht nicht entwickelt und an den serösen Häuten Uratablagerungen nicht bilden, wenn man Tauben oder Hähnen Tage hindurch gleichzeitig neutrales chromsaures Kalium *und* Piperazin reicht; während sich bei den Controlthieren, welche kein Piperazin bekommen, die Gicht typisch entwickelt. Nach MEISELS kann sogar das Piperazin die schon vorhandenen, vorher durch Chromsäure erzeugten Harnsäureablagerungen auflösen. Diese uratlösende Wirkung des Piperazin kann jedoch nicht in jedem Falle von Gicht mit Erfolg verwertet werden, ich habe nämlich die Erfahrung gemacht, dass das Piperazin die durch organische Verbindungen (Zucker, Oxalsäure) erzeugte Gicht weder zu verhinderen noch zu beheben vermag; ich habe sogar die überraschende, und nicht recht verständliche Beobachtung gemacht, dass, wenn man den durch diese Verbindungen gichtkrank gemachten Thieren Piperazin reicht, sie in kurzer Zeit unter auffälligen Vergiftungserscheinungen (Muskelschwäche, Mattigkeit, Incoordination, Cyanose des Kammes) zu Grunde gegangen sind, trotzdem ich Zucker sowohl als Piperazin in so kleinen

---

(1) In einem von KLIMESCH (1889) beschriebenen Vergiftungsfall mit doppelt chromsaurem Kalium beim Menschen hatte die Harnsäureausscheidung beträchtlich abgenommen. — JAKSCH : *Vergiftungen*, Holder, Wien, 1897, S. 246.

Dosen verwendet hatte, dass die Thiere dieselbe einzeln für sich gereicht durch längere Zeit anstandslos vertrugen. So z. B. vertragen Tauben 0,4—0,5 gr. Piperazin pro die durch 4—5 Tage ohne jeden Schaden, und eine 260 gr. schwere Taube verträgt ebenso 2 gr. Rohrzucker durch 14 Tage täglich unter die Haut gespritzt. Dem entgegen ist eine 300 gr. schwere Taube, der ich *auf einmal* 0,5 gr. Rohrzucker und ebensoviel Piperazin subcutan reichte, schon nach 10 Stunden eingegangen. Die gleiche Erfahrung konnte ich in mehreren Fällen machen. *Zweifellos liegt zwischen Zucker, Oxalsäure (und wahrscheinlich noch anderen organischen Verbindungen) einerseits, Piperazin andererseits ein interessanter Fall von therapeutischer Incompatibilität vor,* deren Ursache ich jedoch nicht kenne. Auch der Chromsäuregicht gegenüber hat das Piperazin blos eine uratlösende Wirkung, hingegen hat es *quoad vitam* keinen Wert; die mit Piperazin behandelten Thiere gehen fast ebenso rasch zu Grunde, als wenn sie blos Chromsäure bekommen hätten; was leicht begreiflich ist, da das Piperazin die wahre Ursache der Gicht der Vögel, nämlich die Nierenentzündung nicht behebt; die Nephritis ist bei den mit Piperazin behandelten Thieren ebenso nachzuweisen, wie bei denjenigen, welche blos Chromsäure bekommen haben.

*Budapest, im Juni 1898.*

ARBEIT AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT BRESLAU
(PROF. W. FILEHNE).

# Die Aenderungen der Eigenwärme während der Strychninvergiftung

VON

PRIVATDOCENT Dr H. KIONKA.

Die Richtigkeit des *anscheinend* selbstverständlichen Satzes, dass krampferregende Gifte in Folge der starken Wärmeerzeugung durch den Krampf auf die Körpertemperatur warmblütiger Thiere erhöhend einwirken, schien durch zahlreiche Erfahrungen, namentlich aber durch die Arbeiten von DUMÉRIL, DEMARQUAY et LECOINTE(1), BALOGH(2), C. PH. FALCK(3), TAMASSIA(4), TAYLOR(5), F. A. FALCK(6), HÖGYES(7), HEIDENHAIN(8) u. a. gesichert zu sein. Konnte der Letztgenannte doch durch Darreichungen von 1/2 bis 1 mg. Strychnin in kleinen Intervallen an seinen Thieren (Hunden) Temperatursteigerungen bis auf 41 bis 42, ja sogar unter Umständen bis 44°C erzielen.

Dieser allgemein verbreiteten Ansicht entgegengetreten zu sein und

(1) DUMÉRIL, DEMARQUAY et LECOINTE : Comptes rendus, 1851, XXXII, p. 463.

(2) K. BALOGH : Orvose Hetilap, 1867, p. 903.

(3) C. PH. FALCK : Virchow's Archiv, 1870, Bd. XLIX, p. 484.

(4) A. TAMASSIA : Centralblatt f. d. medicin. Wissensch., 1877, p. 922.

(5) A. S. TAYLOR : The London Medical Record, 1878, Jan. 15.

(6) F. A. FALCK : Archiv f. experiment. Pathologie u. Pharmakol., Bd. III, p. 77; derselbe : Pflüger's Archiv, Bd. 25, p. 565; derselbe : Volkmann's Sammlung Klin. Vorträge, Innere Medecin, Nr 25.

(7) A. HÖGYES : Archiv für experiment. Path. u. Pharmakol., Bd. XIV, p. 113.

(8) R. HEIDENHAIN : Pflüger's Archiv, Bd. 5, p. 108.

festgestellt zu haben, dass die krampfmachenden Gifte beim Warmblüter auch eine Temperaturerniedrigung bewirken, ist das Verdienst der Arbeiten von HARNACK und der unter seiner Leitung angestellten von HERMANN MEYER (1), HOCHHEIM (2), ZUTZ (3) und SCHWEGMANN (4). Diese von ihnen beobachtete Temperatursenkung führen HARNACK und seine Mitarbeiter auf eine Verminderung der Wärmeproduction zurück, die nicht direkt zu Stande kommt, sondern indirect, wie sie sich ausdrücken : « durch eine erregende Wirkung dieser Gifte auf Nervencentren, welche für die Wärmeproduction die Rolle von Hemmungscentren spielen ». Die Reizung dieser « Hemmungscentren » beginne, sobald das Gift im Organismus seine Wirkung entfalte, und ebenso beginne sofort auch die Temperaturerniedrigung. Kommt es dann zu Krämpfen, während welcher durch die gesteigerte Muskelaktion mehr Wärme produciert und auch durch Krampf der « Vasoconstrictoren » (für die *Hautgefässe* aber nicht bewiesen, vermuthlich *nicht* vorhanden. Verf.) die Wärmeabgabe verringert wird, so kann die Temperatur etwas steigen, falls nicht die « hemmenden Einflüsse » die Oberhand gewinnen, die dann auch nach den Krämpfen im weiteren Verlauf der Vergiftung ein starkes Sinken der Körpertemperatur veranlassen.

Ich will gern zugestehen, dass diese Deutung wohl richtig sein *kann*, indessen sind bisher noch keine exakten Beweise für die Zulässigkeit dieser Hypothese erbracht. Namentlich hat diese Ansicht von den « Wärmehemmungscentren » etwas Unsympathisches für diejenigen, welche nach der von LIEBERMEISTER und FILEHNE ausgearbeiteten Lehre wohl Nervencentren annehmen, die der *Wärmeregulation* vorstehen, aber die Wärmeproduktion und Wärmeabgabe nicht als unmittelbare Funktionen bestimmter Centren auffassen. Die jeweilige Körpertemperatur ist nur der Ausdruck für den « Kassenbestand » von Wärme, welcher im Wärmehaushalte des Organismus je nach dem Regulationsbedürfnisse, soweit angängig, aufrecht erhalten wird, während die « Kasseneinnahme » — Wärmeproduktion —

(1) E. HARNACK u. H. MEYER : *Das Amylenhydrat.* Zeitschr. f. klin. Medicin. Bd. XXIV, p. 374.

(2) E. HARNACK und W. HOCHHEIM : *Ueber die temperaturerniedrigende Wirkung krampferregender Gifte.* Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. XXV, p. 16.

(3) W. ZUTZ : *Ueber die Einwirkung einiger Krampfgifte auf die Körpertemperatur warmblütiger Thiere*, mit einem Nachwort von E. HARNACK. Archiv f. experiment. Pathologie u. Pharmakol., Bd. 38, p. 397.

(4) E. HARNACK u. FR. SCHWEGMANN : *Versuche über den Antagonismus temperaturverändernder Wirkungen.* Arch. f. experiment. Pathologie u. Pharmakol., Bd. 39, p. 151.

und « Kassenausgabe » — Wärmeabgabe — Vorgänge zweiter Ordnung sind, bezw. selbstständige Variabelen, gegen welche die Regulation wiederum reagiert.

Hiernach entstand die Aufgabe, sowohl die scheinbar einander widersprechenden thatsächlichen Angaben der genannten Forschergruppen zu controllieren, als auch die hierbei in Betracht kommenden, in einander greifenden Vorgänge im Wärmehaushalte zu verfolgen und aufzuklären.

Meine Untersuchungen beschränkte ich auf die Strychninvergiftung und benutzte zu meinen Versuchen mit wenigen Ausnahmen nur Kaninchen, welche nach Harnack besonders ausgesprochen die temperaturerniedrigende Wirkung dieser Gifte zeigten, während bei Hunden öfters die Temperatursteigerung infolge der Krämpfe eine so bedeutende sei, dass die Temperaturabnahme nicht oder nur unbedeutend zum Ausdruck komme.

Der Weg für meine Untersuchungen war mir vorgezeichnet. Zunächst musste ich das Verhalten der Körpertemperatur in den verschiedenen Stadien der Strychninvergiftung kennen lernen und dann durch calorimetrische Messungen die Wärmeabgabe und Wärmeproduktion während der verschiedenen Perioden der Vergiftung untersuchen. Und endlich wäre es nothwendig gewesen nachzusehen, ob das Strychnin als solches das *Regulationsbestreben* ändere.

## I. — Gang der Körpertemperatur während der Strychninvergiftung.

Sämtliche Messungen wurden wie es auch Harnack gethan an nicht aufgebundenen Thieren, die sich frei bewegen konnten, vorgenommen. Die Messungen geschahen mit gut geprüften Thermometern im Rektum, während das Thier durch leichten Druck der Hand seitwärts auf der Unterlage liegend fixirt wurde. Stets wurde zugleich auch die Zimmertemperatur abgelesen und dafür gesorgt, dass diese während des ganzen Versuches möglichst constant blieb. Die einzelnen Ablesungen wurden in Pausen von 5, 10, 15 Minuten, je nach dem Stadium der Vergiftung vorgenommen. Das Strychnin wurde den Thieren in einer 0,1 %igen Lösung von Strychninum nitricum subcutan beigebracht. Jedoch erfolgte die Applikation des Giftes erst, nachdem durch längere Zeit (circa 1 Stunde) fortgesetzte Messungen der Gang der normalen Körpertemperatur festgestellt war. Um auch die eventuellen Einflüsse ausschalten zu können, welche vielleicht durch das wiederholte Umlegen und Festhalten des Thieres behufs Messung auf die Körpertemperatur zu Stande kämen,

wurden zunächst zur Controlle normale Kaninchen längere Zeit hinter einander in derselben Weise gemessen. Es zeigte sich im Verlauf von mehreren Stunden keine in Betracht kommende Temperaturänderung.

**Protokolle** (1).

*Controllversuch 1.*

Kaninchen, ♀, 1450 gr. schwer, normales Thier, wird zur Controlle gemessen :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. | 9 U. 50′ | K. T. : 39,7° | Z. T. : 18,1° |
| | 10 U. 3′ | » 39,7° | » 18,1° |
| | 10 U. 12′ | » 39,7° | » 18,1° |
| | 10 U. 28′ | » 39,7° | » 18,1° |
| | 10 U. 37′ | » 39,9° | » 18,2° |
| | 10 U. 51′ | » 39,9° | » 18,3° |
| | 11 U. 3′ | » 40,0° | » 18,1° |
| | 11 U. 18′ | » 40,0° | » 18,1° |
| | 11 U. 35′ | » 40,0° | » 18,3° |
| | 11 U. 41′ | » 40,0° | » 18,6° |
| | 12 U. 0′ | » 40,0° | » 18,6° |

Der Versuch wird abgebrochen.

*Controllversuch 2.*

Kaninchen, ♀, 1770 gr. schwer, hat vor 10 Tagen 0,9 mgr. Strychninum nitricum erhalten, jetzt anscheinend wieder normal, wird wie oben gemessen :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 40′ | K. T. : 39,2° | Z. T. : 19,6° |
| | 11 U. 50′ | » 39,0° | |
| Nchm. | 12 U. 8′ | » 38,9° | |
| | 12 U. 30′ | » 38,8° | |
| | 12 U. 49′ | » 38,8° | » 19,8° |
| | 1 U. 5′ | » 38,7° | » 19,8° |
| | 1 U. 16′ | » 38,7° | |
| | 1 U. 40′ | » 38,8° | |
| | 2 U. 2′ | » 38,9° | |
| | 2 U. 16′ | » 39,0° | |
| | 2 U. 37′ | » 39,3° | » 20,0° |
| | 2 U. 52′ | » 39,3° | |
| | 3 U. 40′ | » 39,3° | » 19,8° |
| | 5 U. 38′ | » 39,5° | » 19,7° |

Der Versuch wird abgebrochen.

Zunächst versuchte ich mit kleinen Dosen, welche noch keine Krämpfe

(1) Anm. : In den Protokollauszügen sind folgende Abkürzungen angewandt : K. G. = Körpergewicht, in gr.; K. T. = Körpertemperatur, in °C; Z. T. = Zimmertemperatur, in °C; B. D. = Blutdruck, in mm. Hg; A. G. = Athemgrösse, in c.c.; A. F. = Athemfrequenz (Anzahl der Athemzüge pro Minute).

verursachten, einen Einfluss auf die Körpertemperatur zu erzielen, jedoch erhielt ich bei diesen Vergiftungen mit 0,3 und 0,6 mgr. gar keine oder nur so geringfügige Ausschläge, dass man keinerlei Schlussfolgerungen aus ihnen ziehen konnte. Aber auch grössere Dosen : 0,9 mgr., welche bereits ausgesprochene Krämpfe verursachten, liessen zuweilen (s. Vers. 5 und 6) keine namhafte Aenderung der Temperatur erkennen. — Siehe *Curventafel I* (Vers. 1, 2, 5, 6).

**Protokolle.**

*Versuch 1.*

Kaninchen, ♀, 1850 gr. schwer, erhält nach wiederholter Messung der Körpertemperatur subcutan 0,3 mgr. Strychnin. nitric.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 30' | K. T. : | 39,3° | Z. T. : | 23,0° | |
| Nchm. | 12 U. 45' | » | 39,0° | » | 23,1° | Injection von 0,3 mgr. Strychnin. nitric. |
| | 12 U. 57' | » | 39,1° | » | 22,9° | |
| | 1 U. 12' | » | 39,1° | » | 23,3° | |
| | 1 U. 30' | » | 39,3° | » | 22,6° | |
| | 2 U. 0' | » | 38,9° | » | 22,5° | |
| | 2 U. 30' | » | 39,0° | » | 22,5° | |
| | 3 U. 0' | » | 39,0° | » | 22,5° | |
| | 4 U. 0' | » | 39,3° | » | 22,0° | |

Der Versuch wird abgebrochen.

*Versuch 2.*

Dasselbe Kaninchen wie in Versuch 1, am nächsten Tage. Injection von 0,6 mgr. Strychnin. nitric.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 30' | K. T. : | 39,4° | Z. T. : | 22,4° | |
| | 11 U. 50' | » | 39,4° | » | 22,4° | Injection von 0,6 mgr. Strychnin. nitric. |
| Nchm. | 12 U. 40' | » | 39,4° | » | 22,4° | |
| | 12 U. 50' | » | 39,4° | » | 22,4° | |
| | 1 U. 45' | » | 39,4° | » | 22,3° | |
| | 3 U. 0' | » | 39,5° | » | 22,2° | |
| | 3 U. 30' | » | 39,5° | » | 22,2° | |
| | 4 U. 30' | » | 39,4° | » | 22,1° | |

Der Versuch wird abgebrochen.

*Versuch 5.*

Kaninchen, ♂, 1700 gr. schwer, erhält nach Feststellung der K. T. subcutan 0,9 mgr. Strychnin. nitric. injiciert.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Vm. | 8 U. 45' | K. T. : | 39,0° | Z. T. : | 18,2° | |
| | 9 U. 0' | » | 38,9° | » | 18,0° | |
| | 9 U. 7' | » | 38,7° | » | 18,0° | Injection von 0,9 mg. strychnin. nitric. |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 9 U. 15' | K. T. : 38,5° | Z. T. : 18,3° | Reflexübererregbarkeit. |
| | 9 U 30' | » 38,6° | » 18,2° | nach dem Messen starker Krampfanfall, das Thier liegt auf der Seite, schreit; darauf sitzt es aufrecht, starke Dyspnoë, Exophthalmus, Löffel abgerichtet, Löffelgefässe stark gefüllt. |
| | 9 U. 37' | » 38,7° | » 18,3° | das Thier zuckt öfters zusammen. |
| | 9 U. 46' | » 38,6° | » 18,3° | Dyspnoë. |
| | 9 U. 54' | » 38,5° | » 18,1° | hierauf starker Krampfanfall wie oben, aber etwas schwächer; Dyspnoë, Verhalten der Löffel wie oben. |
| | 10 U. 1' | » 38,5° | » 18,1° | starke Dyspnoë. |
| | 10 U. 10' | » 38,5° | » 18,1° | kurzdauernder Krampf. |
| | 10 U. 17' | » 38,7° | » 18,1° | Dyspnoë und Füllung der Löffelgefässe nehmen allmählich ab, desgleichen verschwindet der Exophthalmus immer mehr. |
| | 10 U. 27' | » 38,6° | » 18,1° | |
| | 10 U. 35' | » 38,6° | » 18,1° | |
| | 10 U. 49' | » 38,7° | » 18,3° | |
| | 11 U. 2' | » 38,7° | » 18,1° | |
| | 11 U. 16' | » 38,9° | » 18,1° | |
| | 11 U. 34' | » 38,9° | » 18,3° | das Thier zeigt nur noch geringe Dyspnoë und erscheint sonst völlig normal. |

Versuch abgebrochen.

*Versuch 6.*

Kaninchen, ♀, 1650 gr. schwer, erhält, wie oben, 0,9 mgr. Strychnin. nitric. — K. T. wird fortlaufend gemessen.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 8 U. 10' | K. T. : 39,3° | Z. T. : 18,2° | |
| | 8 U. 28' | » 39,0° | » 18,5° | Injection von 0,9 mg. Strychnin. nitric. |
| | 8 U. 37' | » 38,8° | » 18,2° | |
| | 8 U. 49' | » 38,7° | » 18,0° | unmittelbar darauf heftiger Krampfanfall, das Thier schreit, liegt auf der Seite, setzt sich dann bald wieder auf, stärkste Dyspnoë, Exophthalmus, stark gefüllte Löffelgefässe. |
| | 8 U. 52' | » 38,9° | » 17,9° | Krampfanfall, wie der vorige, aber etwas leichter. |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Vm. | 8 U. 57′ | K. T. : 38,9° | Z. T. : 17,9° | leichter Anfall. |
| | 9 U. 10′ | » 38,8° | » 18,2° | schwerer Krampfanfall, wie zuerst; das Thier liegt wiederum auf der Seite; schreit, etc. |
| | 9 U. 18′ | » 38,8° | » 18,4° | leichter Anfall; starke Dyspnoë. |
| | 9 U. 28′ | » 38,8° | » 18,2° | desgl. |
| | 9 U. 34′ | » 38,8° | » 18,3° | |
| | 9 U. 42′ | » 38,8° | » 18,3° | leichter Krampfanfall, starke Dyspnoë, |
| | 9 U. 52′ | » 39,0° | » 18,1° | von jetzt ab keine Krämpfe mehr. Dyspnoë, etc. lassen allmählich nach. |
| | 9 U. 58′ | » 38,9° | » 18,1° | |
| | 10 U. 8′ | » 38,9° | » 18,1° | |
| | 10 U. 15′ | » 39,0° | » 18,1° | |
| | 10 U. 25′ | » 38,9° | » 18,1° | |
| | 10 U. 34′ | » 38,9° | » 18,1° | |
| | 10 U. 47′ | » 39,0° | » 18,3° | |
| | 11 U. 0′ | » 38,9° | » 18,1° | |
| | 11 U. 30′ | » 39,0° | » 18,3° | |
| | 11 U. 42′ | » 38,9° | » 18,6° | |

Der Versuch wird abgebrochen.

Brauchbare Temperaturzahlen erhielt ich jedoch, als ich grössere krampfmachende Dosen von 0,9 bis 1,2 mgr. anwandte. Dabei zeigte sich, dass die Kaninchen durchaus nicht gleich empfindlich gegenüber dem Strychnin sind, und dass zuweilen Thiere mit schweren Krämpfen, die mitunter sogar zum Tode führten, antworteten, während andere vielleicht kleinere Thiere auf grössere Dosen nur mit ganz leichten Krämpfen reagirten. Sämmtliche Versuche, bei denen überhaupt ein Einfluss auf die Temperatur zu erkennen war, zeigten ein übereinstimmendes Bild. — Siehe *Curventafel II* (Vers. 3, 10, 19, 20) und *Curventafel III* (Vers. 4, 9, 16, 21 B.).

**Protokolle.**

*Versuch 3.*

Kaninchen, ♀, 1650 gr. schwer, erhält subcutan 0,9 mgr. Strychnin. nitric.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 45′ | K. T. : 39,2° | Z. T. : 19,0° | |
| | 12 U. 0′ | » 39,1° | » 19,0° | Injection : 0,9 mgr. |
| Nchm. | 12 U. 10′ | | | Reflexüberregbarkeit. |
| | 12 U. 12′ | » 39,1° | » 19,1° | |
| | 12 U. 20′ | | | starke Streckkrämpfe. Löffelgefässe erweitert. |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Nchm. 12 U. 21′ | K. T. : 39,4° | Z. T. : 19,6° | das Thier wird ruhiger, es besteht starke Dyspnoë. |
| 12 U. 25′ | » 39,3° | » 19,9° | desgl. |
| 12 U. 30′ | » 39,1° | » 20,0° | das Thier ist ruhig, beschleunigte Athmung, Löffel abgerichtet. |
| 12 U. 35′ | » 39,1° | » 20,0° | kurzer, leichter Krampfanfall, darauf starke Dyspnoë. |
| 12 U. 40′ | » 39,1° | » 20,0° | das Thier sitzt ganz still, starke Dyspnoë. |
| 12 U. 45′ | » 39,05° | » 19,9° | Dyspnoë lässt allmählich nach, desgleichen die Füllung der Ohrgefässe. |
| 12 U. 50′ | » 38,85° | » 20,2° | |
| 12 U. 55′ | » 38,7° | » 20,2° | |
| 1 U. 0′ | » 38,95° | » 20,1° | |
| 1 U. 7′ | » 39,1° | » 20,0° | |
| 1 U. 13′ | » 39,1° | » 20,0° | |
| 1 U. 32′ | » 39,2° | » 20,0° | |
| 2 U. 5′ | » 39,4° | | |
| 2 U. 30′ | » 39,6° | | |
| 3 U. 0′ | » 40,2° | » 19,8° | |
| 4 U. 0′ | » 40,1° | | |
| 5 U. 0′ | » 39,5° | » 19,8° | |
| 5 U. 15′ | » 39,4° | | |

Versuch wird abgebrochen.

*Versuch 10.*

Kaninchen, ♂, 1750 gr. schwer, hat bereits 3 Tage vorher einmal 0,8 mgr. Strychnin. nitric. erhalten, jetzt wieder normal. Es erhält subcutan 1,2 mgr. Strychnin. nitric. injiciert.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. 11 U. 26′ | K. T. : 39,5° | Z. T. : 17,9° | |
| 11 U. 53′ | » 39,3° | » 18,0° | |
| Nchm. 12 U. 6′ | » 39,3° | » 18,1° | Injection : 1,2 mgr. |
| 12 U. 12′ | » 39,3° | » 18,4° | |
| 12 U. 17′ | » 39,3° | » 18,4° | starke Krämpfe, in den krampffreien Pausen starke Dyspnoë. |
| 12 U. 23′ | » 39,7° | » 18,5° | starke Krämpfe. |
| 12 U. 30′ | » 39,8° | » 18,5° | starker heftiger Streckkrampf; das Thier schreit, liegt auf der Seite, vorübergehender Athmungsstillstand, stärkste Füllung der Ohrgefässe. |
| 12 U. 37′ | » 40,0° | » 18,6° | Krämpfe, starke Dyspnoë. |
| 12 U. 54′ | » 39,4° | » 18,3° | leichte Krämpfe. |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Nchm. 1 U. 2′ | K. T. : 39,3° | Z. T. : 18,4° | desgl. |
| 1 U. 20′ | » 39,0° | » 18,4° | desgl., das Thier liegt erschöpft auf dem Bauche, starke Dyspnoë. |
| 2 U. 6′ | » 39,1° | » 18,0° | keine Krämpfe mehr. |
| 2 U. 35′ | » 39,6° | » 18,1° | Dyspnoë lässt nach. |
| 3 U. 2′ | » 39,6° | » 18,0° | |
| 3 U. 54′ | » 39,6° | » 18,0° | Thier sitzt wieder aufrecht. |
| 4 U. 30′ | » 39,8° | » 18,0° | |
| 5 U. 30′ | » 39,7° | » 18,0° | das Thier hat sich wieder vollständig erholt. |

Versuch wird abgebrochen.

*Versuch 19.*

Kaninchen, ♀, 1500 gr. schwer, normales Thier, erhält 0,8 mgr. Strychnin. nitric. subcutan injiciert.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. 11 U. 55′ | K. T. : 39,3° | Z. T. : 19,6° | bleibt während des ganzen Versuches constant. |
| Nchm. 12 U. 16′ | » 39,2° | | |
| 12 U. 33′ | » 39,2° | | |
| 12 U. 35′ | | | Injection : 0,8 mgr. |
| 12 U. 51′ | » 39,4° | | unmittelbar nach dem Messen sehr heftiger Krampfanfall, Exophthalmus, weite Pupillen, Athmungsstillstand. Es wird künstliche Athmung eingeleitet; nach 3 Minuten erholt sich das Thier wieder; starke Dyspnoë. |
| 1 U. 3′ | » 39,4° | | Zitterkrämpfe. |
| 1 U. 11′ | » 39,2° | | desgl. |
| 1 U. 15′ | » 39,1° | | keine Krämpfe mehr, Dyspnoë lässt nach. |
| 1 U. 43′ | » 39,1° | | |
| 2 U. 0′ | » 39,0° | | |
| 2 U. 15′ | » 39,1° | | |
| 2 U. 35′ | » 39,1° | | |
| 2 U. 50′ | » 39,2° | | |
| 3 U. 42′ | » 39,3° | | |
| 5 U. 40′ | » 39,3° | | |
| 6 U. 8′ | » 39,2° | | das Thier hat sich wieder vollständig erholt. |

Der Versuch wird abgebrochen.

*Versuch 20.*

Kaninchen, ♀, 2100 gr. schwer, normales Thier, erhält subcutan 0,8 mgr. Strychn. nitric.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 10 U. 45' | K. T. : 39,5° | Z. T. : 20,3° | bleibt constant. |
| | 11 U. 12' | » 39,5° | | |
| | 11 U. 45' | » 39,4° | | |
| | 11 U. 47' | » | | Injection : 0,8 mgr. |
| Nchm. | 12 U. 0' | | | weite Ohrgefässe. |
| | 12 U. 3' | » 39,5° | | |
| | 12 U. 12' | » 39,6° | | Reflexüberregbarkeit, Dyspnoë. |
| | 12 U. 21' | » 39,7° | | starke klonische Krämpfe. Löffelgefässe stark erweitert. |
| | 12 U. 30' | » 40,3° | | fortwährend starke (Lauf-) Krämpfe. Das Thier liegt auf der Seite. |
| | 12 U. 37' | » 40,5° | | desgl. |
| | 12 U. 45' | » **40,6°** | | die Krämpfe lassen etwas nach. |
| | 12 U. 55' | » 40,2° | | desgl. |
| | 1 U. 7' | » 39,6° | | keine Krämpfe mehr. Das Thier liegt erschöpft auf der Seite ; starke Dyspnoë. |
| | 1 U. 30' | » 39,3° | | desgl. |
| | 1 U. 50' | » 39,2° | | |
| | 2 U. 12' | » 38,9° | | das Thier sitzt aufrecht. Dyspnoë. |
| | 2 U. 30' | » **38,7°** | | |
| | 3 U. 0' | » 38,8° | | |
| | 3 U. 40' | » 39,0° | | |
| | 4 U. 45' | » 39,1° | | das Thier anscheinend wieder vollständig erholt. |

Versuch wird abgebrochen.

*Versuch 4.*

Kaninchen, ♀. K. G. 1650 gr., erhält subcutan 0,8 mgr. Strychnin. nitric.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 55' | K. T. : 39,4° | Z. T. : 20,1° | |
| | 12 U. 0' | » 39,2° | » 20,1° | Injection : 0,8 mgr. |
| Nchm. | 12 U. 10' | » 39,2° | » 20,2° | grosse Reflexübererregbarkeit, die immer mehr zunimmt. |
| | 12 U. 17' | » **39,7°** | » 20,3° | wiederholt leichte Reflexkrämpfe mit starker Dyspnoë, stark gefüllte Ohrgefässe. |
| | 12 U. 25' | » 39,45° | | Reflexkrämpfe nehmen zu. |
| | 12 U. 35' | » 39,3° | » 20,2° | öfters kurze Krämpfe. |
| | 12 U. 44' | » 39,2° | » 20,2° | |
| | 12 U. 52' | » 39,1° | » 20,2° | Krämpfe lassen nach. |
| | 1 U. 2' | » 39,1° | | Thier ist sehr ermattet. |
| | 1 U. 19' | » **38,6°** | » 20,1° | |
| | 1 U. 30' | » 38,8° | | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 U. 45′ | K. T. : | 39,2° | | | |
| 2 U. 10′ | » | 39,4° | Z. T. : | 20,0° | Thier erholt sich. |
| 2 U. 30′ | » | 39,2° | | | |
| 2 U. 50′ | » | 39,0° | » | 19,0° | |
| 3 U. 10′ | » | 39,2° | » | 19,2° | |
| 3 U. 30′ | » | 39,3° | » | 19,3° | |
| 3 U. 50′ | » | 39,2° | » | 19,5° | |
| 4 U. 10′ | » | 39,3° | | | |
| 5 U. 5′ | » | 39,4° | » | 19,0° | |
| 5 U. 30′ | » | 39,4° | | | Das Thier ist vollständig normal. |

Versuch abgebrochen.

*Versuch 9.*

Kaninchen, ♀, K. G., 1650 gr., dasselbe Thier wie in Versuch 4, drei Tage später, erhalt 1,2 mgr. Strychnin. nitric. subcutan.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 23′ | K. T. : | 39,1° | Z. T. : | 17,9° | |
| | 11 U. 51′ | » | 38,8° | » | 18,0° | |
| Nchm. | 12 U. 3′ | » | 38,8° | » | 18,1° | Injection 1,2 mgr. |
| | 12 U. 10′ | » | 39,0° | » | 18,4° | |
| | 12 U. 15′ | » | 38,9° | » | 18,4° | starker Krampfanfall, stärkste Füllung der Ohrgefässe. |
| | 12 U. 20′ | » | **39,4°** | » | 18,5° | fortwährend starke Krämpfe. |
| | 12 U. 27′ | » | 39,1° | » | 18,5° | desgl., lang andauernder Starrkrampf mit vorübergehendem Athmungstillstand, starke Füllung der Löffelgefässe. |
| | 12 U. 34′ | » | 39,3° | » | 18,5° | Krämpfe. |
| | 12 U. 51′ | » | 38,1° | » | 18,2° | leichte Krämpfe. |
| | 1 U. 0′ | » | 38,2° | » | 18,2° | desgl. |
| | 1 U. 17′ | » | 38,1° | » | 18,4° | desgl. |
| | 2 U. 8′ | » | **38,0°** | » | 18,0° | desgl., Thier sehr ermattet. |
| | 2 U. 32′ | » | 38,9° | » | 18,1° | keine Krämpfe mehr. |
| | 3 U. 0′ | » | 38,9° | » | 18,0° | |
| | 3 U. 52′ | » | 39,2° | » | 18,0° | Thier erholt sich allmählich. |
| | 4 U. 27′ | » | 39,3° | » | 18.0° | |
| | 5 U. 28′ | » | 39,3° | » | 18,0° | das Thier ist wieder ganz munter. |

Versuch abgebrochen.

*Versuch 16.*

Kaninchen, ♂, K. G. 1750 gr., erhält subcutan 1,05 mgr. Strychnin. nitric. Das Thier wird weniger häufig gemessen, als in den übrigen Versuchen, es ist während des ganzen Versuches, meist sich selbst überlassen, frei im Garten des Instituts. Lufttemperatur im Schatten gemessen ,etwa 22,0°C.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. | 9 U. 45′ | K. T. | 38,9° |
| | 10 U. 10′ | » | 38,8° |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 10 U. 12′ | K. T. | 38,8° | Injection : 1,05 mgr. |
| | 10 U. 25′ | | | Das Thier, das bis jetzt ruhig gesessen, läuft plötzlich, etwa 5 Meter, weit vorwärts und stürzt dann im Krampfe zusammen, sofort gemessen : |
| | 10 U. 27′ | » | **40,0°** | Dyspnoë, sitzt nach dem Messen wieder ruhig da. |
| | 10 U. 38′ | | | stampft es mit den Hinterpfoten. |
| | 10 U. 44′ | » | 39,7° | hierauf starke Krämpfe, Thier liegt auf der Seite, Athmungsstillstand, künstliche Athmung. |
| | 10 U. 47′ | | | Unruhe des Thieres. |
| | 10 U. 51′ | » | 39,6° | darauf leichter Krampfanfall. |
| | 11 U. 2′ | » | 39,4° | desgl. |
| | 11 U. 20′ | » | 39,5° | desgl. |
| | 11 U. 35′ | » | 39,2° | desgl. |
| | 11 U. 53′ | » | 39,1° | desgl. |
| Nchm. | 12 U. 30′ | » | **38,8°** | keine Krämpfe mehr. |
| | 12 U. 50′ | » | 38,8° | |
| | 1 U. 32′ | » | 38,9° | |
| | 2 U. 0′ | » | 39,0° | |
| | 3 U. 0′ | » | 39,3° | |
| | 4 U. 15′ | » | 38,8° | |
| | 4 U. 50′ | » | 38,7° | |
| | 5 U. 30′ | » | 38,7° | das Thier ist wieder ganz normal. |

Versuch wird abgebrochen.

*Versuch 21 B.* (Siehe weiter unten.)

## TABELLE I.

| Versuchsnr | K. G. des Kaninchens | Strychnindosis in mgr. | K. T. zur Zeit der Injection | Höchste K. T. während des Vers. | Zeit der höchsten K. T. nach der Injection | Niedrigste K. T. nach der Injection | Zeit der niedrigsten K. T. nach der Injection | Differenz der höchsten K. T. und der K. T. zur Zeit der Injection | Differenz der niedrigsten K. T. und der K. T. zur Zeit der Injection | Differenz der höchsten und niedrigsten K. T. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 1650 gr. | 0,9 | 39,1° | 39,4° | 21 Min. | 38,7° | 55 Min. | 0,3° | 0,4° | 0,7° |
| 10 | 1750 » | 1,2 | 39,3° | 40,0° | 31 » | 39,0° | 64 » | 0,7° | 0,3° | 1,0° |
| 19 | 1500 » | 0,8 | 39,2° | 39,4° | 28 » | 39,0° | 85 » | 0,2° | 0,2° | 0,4° |
| 20 | 2100 » | 0,8 | 39,4° | 40,6° | 58 » | 38,7° | 163 » | 1,2° | 0,7° | 1,9° |
| 4 | 1650 » | 0,8 | 39,2° | 39,7° | 17 » | 38,6° | 79 » | 0,5° | 0,6° | 1,1° |
| 9 | 1650 » | 1,2 | 38,8° | 39,4° | 17 » | 38,0° | 125 » | 0,6° | 0,8° | 1,4° |
| 16 | 1750 » | 1,05 | 38,8° | 40,0° | 15 » | 38,8° | 157 » | 1,2° | 0,0° | 1,2° |
| 21 B | 2270 » | 0,8 | 39,0° | 39,5° | 14 » | 38,9° | 63 » | 0,5° | 0,1° | 0,6° |

Man sieht bei sämmtlichen Versuchen übereinstimmend zunächst ein Ansteigen der Temperatur bis um 1,2°. Die höchste Temperatur wird erreicht 14—58 Minuten nach der Injection. Diese Temperatursteigerung bestätigt die zahlreichen Beobachtungen früherer Autoren, welche z. Th. wie z B. HEIDENHAIN, F. A. FALCK, noch bedeutendere Temperatur-

erhöhungen beobachteten. Auch die sehr exact gezeichneten Temperaturcurven von C. PH. FALCK, welche dieser an unter anderem mit Pikrotoxin, Strychnin und Brucin vergifteten Thieren aufnahm, weisen Temperaturerhöhungen bis zu 3° auf. Diese Curven werden an aufgebundenen Thieren gewonnen. Hier mischten sich nun zwei einander entgegengesetzte Faktoren ein : einmal kann das Thier in Folge Sträubens eine Erhöhung der Körpertemperatur bewirken, andrerseits wegen der Vergrösserung der wärmeabgebenden Oberfläche eine Abkühlung erfahren. — Auch selbst bei den Strychnin- und Brucinversuchen von HARNACK und HOCHHEIM finden sich analoge Verhältnisse, so besonders in den an *Hunden* angestellten Versuchen 49, 50 und 52, sowie in dem *Kaninchenversuch* 56, dessen Temperaturcurve (Seite 41) 15 Minuten nach der Injection von 5 mgr. Brucin einen deutlichen Anstieg um 0,5° zeigt.

Diesem kurzen Stadium der Temperaturerhöhung folgt indessen ein ziemlich schroffer Absturz der Temperatur, wie ihn HARNACK und seine Mitarbeiter für eine grosse Anzahl von Krampfgiften nachgewiesen haben. Die Temperatur kann dabei bis um ca 2° sinken, wie es Versuch 20 zeigt. Die Temperatur bleibt nun für gewöhnlich eine Zeitlang etwas unter der Norm und steigt erst nach Stunden wieder auf die normale Höhe zurück. Einmal konnte ich — in Versuch 3 — nach der Temperatursenkung wiederum ein Ansteigen beobachten, welches sogar (3 Stunden nach der Injection) zu noch höherer Temperatur führte, als im Beginn der Vergiftung; indessen darf man aus dieser ganz einzeln stehenden Beobachtung wohl keine weiteren Schlüsse ziehen.

Wichtig ist, dass häufig, wie in Versuch 3, 10, 20, 4, 9, die Temperatur schon sank, während das Thier immer noch Krämpfe bekam, ja dass in Versuch 16 und 21 B die Temperatursenkung schon vor dem ersten eklatanten Krampfanfall begann.

Dagegen kamen auch Fälle vor, bei denen Thiere mit erhöhter Temperatur im Krampfanfalle starben, wenn dieser Exitus nicht länger als 15 bis 58 Minuten (s. o.) nach Einverleibung des Giftes eintrat. — Siehe *Curventafel IV* (Versuch 7, 8, 18).

**Protokolle.**

*Versuch 7.*

Kaninchen, ♀, K. G. 1650 gr., dasselbe Thier wie in Versuch 3 (s. o.) 4 Tage später, anscheinend wieder ganz normal, erhält subcutan 2,0 mgr. Strychnin nitric.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 8 U. 15′ | K. T. : 39,2° | Z. T. : 18,0° | |
| | 8 U. 55′ | » 38,6° | » 18,0° | |
| | 9 U. 10′ | » 38,7° | » 18,0° | Injection : 2,0 mgr. |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm | 9 U. 15′ | K. T. : 38,7° | | starker Krampfanfall, darauf fortwährend langandauernde heftige Krämpfe. |
| | 9 U. 18′ | » 39,3° | | während eines Starrkrampfes gemessen. |
| | 9 U. 20′ | » **39,4°** | | bald darauf stirbt das Thier im heftigsten Krampfanfall. |

*Versuch 8.*

Kaninchen, ♀, K. G. 1850 gr., erhält subcutan 2,0 mgr. Strychnin. nitric.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 8 U. 17′ | K. T. : 40,3° | Z. T. : 18,0° | |
| | 8 U. 57′ | » 40,3° | » 18,0° | |
| | 9 U. 12′ | » 40,3° | » 18,0° | Injection : 2,0 mg. |
| | 9 U. 17′ | » **41,0°** | | heftige fortwährend andauernde Krämpfe, im Anfall selbst gemessen. |
| | 9 U. 19′ | » 40,0° | | die Krämpfe hören nicht auf, das Thier stirbt. |

*Versuch 18.*

Kaninchen, ♀, K. G. 2550 gr., erhält subcutan 0,8 mgr. Strychnin. nitric.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 45′ | K. T. : 39,4° | Z. T. : 19,6° | bleibt während des Versuches constant. |
| Nchm. | 12 U. 5′ | » 39,2° | | |
| | 12 U. 20′ | » 39,2° | | Injection : 0,8 mgr. |
| | 12 U. 35′ | » 39,4° | | |
| | 12 U. 40′ | » | | das Thier zittert am ganzen Körper, streckt die Extremitäten steif von sich. |
| | 12 U. 45′ | » 39,6° | | Verhalten wie oben. |
| | 12 U. 55′ | » 40,2° | | Thier sehr reflexübererregbar. |
| | 1 U. 5′ | » 40,2° | | desgl. |
| | 1 U. 15′ | » 40,4° | | heftiger, lange andauernder Krampfanfall, während desselben gemessen. Die Krämpfe dauern ununterbrochen weiter fort. |
| | 1 U. 18′ | » **41,2°** | | im Anfall gemessen; das Thier stirbt. |

Wir haben also bei der Strychninvergiftung deutlich zwei Stadien unterschieden: erstens ein kürzer dauerndes der Temperatursteigerung und zweitens ein solches der Temperaturerniedrigung. Ich habe nun durch calorimetrische Messungen die Wärmeproduktion und Wärmeabgabe während dieser beiden Abschnitte der Vergiftung festzustellen versucht.

## II. — Wärmehaushalt während der Strychninvergiftung.

Zu meinen calorimetrischen Versuchen stand mir nur ein im hiesigen Institut befindliches RICHET'sches Calorimeter zur Verfügung. Ich musste daher meine Untersuchungen mit diesem Instrument anstellen trotz seiner bekannten Fehler und Ungenauigkeiten, welche gültige *absolute* Zahlen zu gewinnen nicht erlauben. Indessen konnte ich es für meine Versuche hier sehr wohl benutzen, da es sich um verhältnissmässig schnell ablaufende Vorgänge handelte und es für meine Zwecke ausreichend war, zuverlässige *relative* Zahlen zu erhalten.

Die Versuche wurden in der Weise angestellt dass die Thiere auf ihre Körpertemperatur controlliert und dann in das Calorimeter hineingesetzt wurden. Von Minute zu Minute wurden dann die abgeflossenen Wassermengen an einem graduirten Cylinder abgelesen und hieraus die Menge der abgegebenen Calorieen berechnet. Nach 20 bzw. 30 Minuten wurde der Versuch abgebrochen, das Thier aus dem Calorimeter genommen, seine Körpertemperatur bestimmt und aus dem Verhalten dieser zur Anfangstemperatur und event. unter Benutzung des Körpergewichts des Thieres und der Wärmecapacität die producierte Wärmemenge berechnet. War so an dem Versuchsthier der Wärmehaushalt in der Norm bekannt, so wurde nach einigen Stunden, — nachdem das Calorimeter sich wieder abgekühlt hatte — das Thier in dem zu untersuchenden Stadium der Strychninvergiftung in derselben Weise auf seine Wärmeabgabe geprüft und die Wärmeproduktion berechnet.

### A. Erstes Stadium : steigende Temperatur.

**Protokolle.**

*Versuch 12.*

Kaninchen, ♂, K. G. 1700 gr., normales Thier.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. 10 U. 20' | K. T. : 39,1° | Z. T. : 21,1° |
| 11 U. 20' | » 39,1° | |
| 11 U. 40' | » 39,1° | » 21,1° |
| 11 U. 45' | » **39,1°** | » 21,2° |

11 U. 46' *calorimetrischer Versuch A : am normalen Thier* bis Nchm. 12 U. 6'.

| Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|
| Vm. 11 U. 47' | 3 c.c. |
| 11 U. 48' | 3 » |
| 11 U. 49' | 3 » |
| 11 U. 50' | 2 » |
| 11 U. 51' | 4 » |
| 11 U. 52' | 3 » |

| Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. |
|---|---|
| Vm. 11 U. 53' | 2 c.c. |
| 11 U. 54' | 3 » |
| 11 U. 55' | 2 » |
| 11 U. 56' | 2 » |
| 11 U. 57' | 2 » |
| 11 U. 58' | (4) » (Correctur) |
| 11 U. 59' | 2 » |
| Nchm. 12 U. 0' | 2 » |
| 12 U. 1' | 1 » |
| 12 U. 2' | 2 » |
| 12 U. 3' | 1 » |
| 12 U. 4' | 2 » |
| 12 U. 5' | 1 » |
| 12 U. 6' | 2 » |

Abgeflossene Wassermenge in 20 Min. : 47 c.c.

Körpertemperatur beim Herausnehmen aus dem Calorimeter immer noch 39,1°.

*Wärmeabgabe = Wärmeproduktion = 3055 Calorieen.*

| | | | |
|---|---|---|---|
| Nchm. 12 U. 8' | K. T. : 39,1° | Z. T. : 21,3° | |
| 4 U. 45' | » 39,3° | » 21,1° | |
| 4 U. 55' | » **39,3°** | » 21,1° | |
| 4 U. 56' | | | Injection : *1,0 mgr. Strychnin. nitric.* |
| 4 U. 57' | | | kommt sofort ins Calorimeter. |

*Calorimetrischer Versuch B : am strychninvergifteten Thier* bis Nchm. 5 U. 17'.

| Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|
| Nchm. 4 U. 58' | 3 c.c. |
| 4 U. 59' | 4 » |
| 5 U. 0' | 3 » |
| 5 U. 1' | 4 » |
| 5 U. 2' | 3 » |
| 5 U. 3' | 3 » |
| 5 U. 4' | 3,5 » |
| 5 U. 5' | 3 » |
| 5 U. 6' | 2,5 » |
| 5 U. 7' | (6) » (Correctur) |
| 5 U. 8' | 2 » |
| 5 U. 9' | 3 » |
| 5 U. 10' | 3 » |
| 5 U. 11' | 4 » |
| 5 U. 12' | 3 » |
| 5 U. 13' | 4 » |
| 5 U. 14' | 3 » |
| 5 U. 15' | (7) » (Correctur) |
| 5 U. 16' | 4 » |
| 5 U. 17' | 4 » |

Nchm. 5 U. 17'. — Das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T. : **39,3°**, Z. T. : 21,3°.

Abgeflossene Wassermenge in 20 Min. : 72 c.c.

*Wärmeabgabe = Wärmeproduktion = 4980 Calorieen.*

Das Thier hat während des Aufenthaltes im Calorimeter wiederholt Krämpfe gehabt, es liegt jetz nach dem Herausnehmen ermattet da.

Nchm. 5 U. 20' ein heftiger lange dauernder Krampfanfall, dann fortwährend Krämpfe.

5 U. 23' K. T. : 40,0° im Anfall gemessen. Das Thier stirbt.

### *Versuch 13.*

Kaninchen, ♀, K. G. 1770 gr., normales Thier.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. 9 U. 40' | K. T. : 39,2° | Z. T. : 21,9° | |
| 10 U. 45' | » 39,4° | » 22,2° | |
| 11 U. 30' | » 39,2° | » 22,6° | |
| 11 U. 45' | » **39,2°** | » 22,7° | Thier kommt ins Calorimeter. |

*Calorimetrischer Versuch A : am normalen Thier* bis Nchm. 12 U. 5'.

| Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|
| Vm. 11 U. 46' | 2 c.c. |
| 11 U. 47' | 4 » |
| 11 U. 48' | 3 » |
| 11 U. 49' | 3 » |
| 11 U. 50' | 2 » |
| 11 U. 51' | 3 » |
| 11 U. 52' | 2 » |
| 11 U. 53' | 3 » |
| 11 U. 54' | 2 » |
| 11 U. 55' | 2 » |
| 11 U. 56' | 2 » |
| 11 U. 57' | 2 » |
| 11 U. 58' | (5) » (Correctur) |
| 11 U. 59' | 2 » |
| Nchm. 12 U. 0' | 1 » |
| 12 U. 1' | 2 » |
| 12 U. 2' | 1 » |
| 12 U. 3' | 2 » |
| 12 U. 4' | 1 » |
| 12 U. 5' | 1 » |

Nchm. 12 U. 5'. Das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T. : **39,1°**, Z. T. : 22,8°.

Abgeflossene Wassermenge in 20 Min. : 45 c.c.

*Wärmeabgabe = 2925 Calorieen.*

*Wärmeproduction = 2778 Calorieen.*

Nchm. 5 U. 2' K. T. : 39,0° Z. T. : 22,8°

Nchm. 5 U. 18′ K. T. : **39,0°** Z. T. : 22,8° Injection : 0,9 mgr. Strychnin. nitric. Das Thier kommt sofort ins Calorimeter.

*Calorimetrischer Versuch B : am strychninvergifteten Thier* bis Nchm. 5 U. 38′.

| Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|
| Nchm. 5 U. 19′ | 4 c.c. |
| 5 U. 20′ | 3 » |
| 5 U. 21′ | 3 » |
| 5 U. 22′ | 3 » |
| 5 U. 23′ | 3 » |
| 5 U. 24′ | 3 » |
| 5 U. 25′ | 2 » |
| 5 U. 26′ | 2 » |
| 5 U. 27′ | 2 » |
| 5 U. 28′ | 2 » |
| 5 U. 29′ | 2 » |
| 5 U. 30′ | (5) » (Correctur) |
| 5 U. 31′ | 1 » |
| 5 U. 32′ | 2 » |
| 5 U. 33′ | 2 » |
| 5 U. 34′ | 2 » |
| 5 U. 35′ | 1 » |
| 5 U. 36′ | 1 » |
| 5 U. 37′ | 2 » |
| 5 U. 38′ | 2 » |

Nchm. 5 U. 38′. Das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T. : **39,05°**, Z. T. : 23,0°.

Abgeflossene Wassermenge in 20 Min. : 47 c.c.

*Wärmeabgabe = 3055 Calorieen.*

*Wärmeproduktion = 3129 Calorieen.*

Unmittelbar nach dem Herausnehmen hat das Thier einen heftigen, lange andauernden Krampfanfall.

Nchm. 6 U. 0′. K. T. : 39,05, Z. T. : 22,8°. Das Thier erholt sich wieder.

*Versuch 17.*

Kaninchen, ♂, K. G. 2220 gr., normales Thier.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. 7 U. 30′ | K. T. : 39,0° | Z. T. : 22,5° | |
| 9 U. 40′ | » 39,3° | » 23,0° | |
| 10 U. 30′ | » 39,1° | » 23,4° | |
| 10 U. 55′ | » 39,1° | | |
| Nchm. 12 U. 32′ | » **38,9°** | » 24,6° | |
| 12 U. 34′ | | | das Thier kommt ins Calorimeter. |

*Calorimetrischer Versuch A : am normalen Thier* bis Nchm. 1 U. 4′.

| Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c : |
|---|---|
| Nchm. 12 U. 35′ | 2 c.c. |

| Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|
| Nchm. 12 U. 36′ | 3 c.c. |
| 12 U. 37′ | 3 » |
| 12 U. 38′ | 2 » |
| 12 U. 39′ | 3 » |
| 12 U. 40′ | 2 » |
| 12 U. 41′ | 2 » |
| 12 U. 42′ | 2 » |
| 12 U. 43′ | 2 » |
| 12 U. 44′ | 1 » |
| 12 U. 45′ | 1 » |
| 12 U. 46′ | 2 » |
| 12 U. 47′ | 1 » |
| 12 U. 48′ | 2 » |
| 12 U. 49′ | 1 » |
| 12 U. 50′ | 1 » |
| 12 U. 51′ | (4) » (Correctur) |
| 12 U. 52′ | 1 » |
| 12 U. 53′ | 1 » |
| 12 U. 54′ | 1 » |
| 12 U. 55′ | 1 » |
| 12 U. 56′ | 1 » |
| 12 U. 57′ | 1 » |
| 12 U. 58′ | 1 » |
| 12 U. 59′ | 1 » |
| 1 U. 0′ | 1 » |
| 1 U. 1′ | 0,5 » |
| 1 U. 2′ | 0,5 » |
| 1 U. 3′ | 1 » |
| 1 U. 4′ | 1 » |

Nchm. 1 U. 4′. Das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T : **38,5°**, Z. T. : 24,5°.

Abgeflossene Wassermenge in 30 Min. : 46 c.c.

*Wärmeabgabe = 2990 Calorieen.*

*Wärmeproduktion = 2253 Calorieen.*

| | | | |
|---|---|---|---|
| Nchm. 3 U. 17′ | K. T. : 38,5° | Z. T. : 24,3° | |
| 3 U. 47′ | » 38,3° | » 24,3° | |
| 4 U. 54′ | » 38,3° | » 24,4° | |
| 5 U. 0′ | » **38,3°** | | Injection : 1,0 mgr. Strychnin. nitric. Das Thier kommt sofort ins Calorimeter. |

*Calorimetrischer Versuch B : am strychninvergifteten Thier* bis Nchm 5 U. 30′.

| Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|
| Nchm. 5 U. 1′ | 1 c.c. |
| 5 U. 2′ | 4 » |

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. | |
|---|---|---|---|
| Nchm. | 5 U. 3′ | 3 c.c. | |
| | 5 U. 4′ | 3 » | |
| | 5 U. 5′ | 3 » | |
| | 5 U. 6′ | 3 » | |
| | 5 U. 7′ | 2 » | |
| | 5 U. 8′ | 2 » | |
| | 5 U. 9′ | 3 » | |
| | 5 U. 10′ | 2 » | |
| | 5 U. 11′ | 2 » | |
| | 5 U. 12′ | 2 » | |
| | 5 U. 13′ | (4) » | (Correctur) |
| | 5 U. 14′ | 2 » | |
| | 5 U. 15′ | 1 » | |
| | 5 U. 16′ | 2 » | |
| | 5 U. 17′ | 2 » | Krämpfe |
| | 5 U. 18′ | 2 » | desgl. |
| | 5 U. 19′ | 2 » | desgl. |
| | 5 U. 20′ | 2 » | |
| | 5 U. 21′ | 2 » | |
| | 5 U. 22′ | 1 » | |
| | 5 U. 23′ | 2 » | leichte Unruhe |
| | 5 U. 24′ | 2 » | |
| | 5 U. 25′ | 1 » | |
| | 5 U. 26′ | 1 » | Krämpfe |
| | 5 U. 27′ | 2 » | heftige Krämpfe |
| | 5 U. 28′ | 2 » | |
| | 5 U. 29′ | (4) » | (Correctur) |
| | 5 U. 30′ | 2 » | Krämpfe |

Nchm. 5 U. 30′ : Das Thier wird aus dem Calorimeter genommen, heftiger Krampf, im Krampfanfall gemessen K. T. : **38,55°**, Z. T. : 24,6°.

Abgeflossene Wassermenge in 30 Min. : 66 c.c.

*Wärmeabgabe = 4290 Calorieen.*

*Wärmeproduction = 4751 Calorieen.*

Nach dem Herausnehmen hat das Thier fortwährend heftige Krämpfe.

Es stirbt Nchm. 5 U. 37′ im Krampfanfall.

*Versuch 29.*

Kaninchen, ♀, K. G. 1500 gr., normales Thier.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. 11 U. 20′ | K. T. : 39,1° | Z. T. : 19,5° | |
| Nchm. 12 U. 26′ | » **39,1°** | » 19,5° | das Thier kommt ins Calorimeter. |

*Calorimetrischer Versuch A : am normalen Thier* bis Nchm. 12 U. 56′.

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|---|
| Nchm. | 12 U. 27′ | 3 c.c. |

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|---|
| Nchm. | 12 U. 28′ | 4 c.c. |
| | 12 U. 29′ | 3 » |
| | 12 U. 30′ | 4 » |
| | 12 U. 31′ | 3 » |
| | 12 U. 32′ | 4 » |
| | 12 U. 33′ | 3 » |
| | 12 U. 34′ | 3 » |
| | 12 U. 35′ | 3 » |
| | 12 U. 36′ | (7) » (Correctur) |
| | 12 U. 37′ | 3 » |
| | 12 U. 38′ | 3 » |
| | 12 U. 39′ | 3 » |
| | 12 U. 40′ | 3 » |
| | 12 U. 41′ | 2 » |
| | 12 U. 42′ | 2 » |
| | 12 U. 43′ | 3 » |
| | 12 U. 44′ | 2 » |
| | 12 U. 45′ | 2 » |
| | 12 U. 46′ | (6) » (Correctur) |
| | 12 U. 47′ | 2 » |
| | 12 U. 48′ | 2 » |
| | 12 U. 49′ | 2 » |
| | 12 U. 50′ | 2 » |
| | 12 U. 51′ | 2 » |
| | 12 U. 52′ | 1 » |
| | 12 U. 53′ | 2 » |
| | 12 U. 54′ | 2 » |
| | 12 U. 55′ | 2 » |
| | 12 U. 56′ | 3 » |

Nchm. 12 U. 56′. Das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T. : **39,1°**, Z. T. : 20,2°.

Abgeflossene Wassermenge in 30 Min. : 86 c.c.

***Wärmeabgabe = 5590 Calorieen.***

***Wärmeproduktion = 5590 Calorieen.***

Nchm. 5 U. 54′ K. T. : 39,3° Z. T. : 19,8° Injection : 0,8 mgr. Strychnin. nitric.

5 U. 56′ » **39,3°** » 19,8° das Thier kommt ins Calorimeter.

*Calorimetrischer Versuch B : am strychninvergifteten Thier* bis Nchm 6 U. 27.

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|---|
| Nchm. | 5 U. 58′ | 6 c.c. |
| | 5 U. 59′ | 6 » |
| | 6 U. 0′ | 6 » |
| | 6 U. 1′ | 6 » |

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : | |
|---|---|---|---|
| Nchm. | 6 U. 2′ | 5 c.c. | |
| | 6 U. 3′ | 3 » | |
| | 6 U. 4′ | (6) » | (Correctur) |
| | 6 U. 5′ | 4 » | |
| | 6 U. 6′ | 3 » | |
| | 6 U. 7′ | (6) » | (Correctur) |
| | 6 U. 8′ | 3 » | |
| | 6 U. 9′ | 2 » | |
| | 6 U. 10′ | 2 » | |
| | 6 U. 11′ | 2 » | |
| | 6 U. 12′ | 2 » | |
| | 6 U. 13′ | 3 » | |
| | 6 U. 14′ | 3 » | |
| | 6 U. 15′ | 2 » | |
| | 6 U. 16′ | 2 » | Krämpfe |
| | 6 U. 17′ | 2 » | |
| | 6 U. 18′ | (5) » | (Correctur) |
| | 6 U. 19′ | 3 » | |
| | 6 U. 20′ | 2 » | Krämpfe |
| | 6 U. 21′ | 2 » | |
| | 6 U. 22′ | 1 » | |
| | 6 U. 23′ | 2 » | |
| | 6 U. 24′ | 1 » | |
| | 6 U. 25′ | 2 » | Krämpfe |
| | 6 U. 26′ | 1 » | |
| | 6 U. 27′ | 3 » | |

Nchm. 6 U. 27′ : das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T. : **39,6°**, Z. T. : 20,2°.

Abgeflossene Wassermenge in 30 Min. : 95 c.c.

*Wärmeabgabe = 6175 Calorieen.*

*Wärmeproduktion = 6549 Calorieen.*

Beim Herausnehmen aus dem Calorimeter hatte das Thier einen heftigen Krampfanfall mit Athmungsstillstand. Die Krämpfe dauern noch eine Zeitlang fort, dann erholt sich das Thier allmählich wieder.

## TABELLE II.

| Versuchsnr | K. G. | Strychnindosis in mgr. | Dauer des calorimetr. Versuches in Min. | Normales Thier | | | | Strychninvergiftetes Thier. I. Stadium | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | K. T. vor dem calorim. Vers. | K. T. nach dem calorim. Vers. | Wärme-abgabe in Calorieen | Wärme-produktion in Calorieen | K. T. vor dem calorim. Vers. | K. T. nach dem calorim. Vers. | Wärme-abgabe in Calorieen | Wärme-produktion in Calorieen |
| 12 | 1700 gr. | 1.0 | 20 | 39.1° | 39.1° | **3055** | **3055** | 39.3° | 39.3° | **4980** | **4980** |
| 13 | 1770 » | 0.9 | 20 | 39.2° | 39.1° | **2925** | **2778** | 39.0° | 39.05° | **3055** | **3129** |
| 17 | 2220 » | 1.0 | 30 | 38.9° | 38.5° | **2990** | **2253** | 38.3° | 38.55° | **4290** | **4751** |
| 29 | 1500 » | 0,8 | 30 | 39,1° | 39,1° | **5590** | **5590** | 39,3° | 39,6° | **6175** | **6549** |

Man sieht, dass in sämmtlichen Versuchen im Stadium der steigenden Temperatur übereinstimmend die Wärmeabgabe gegen die Norm bedeutend vermehrt ist, und da bei den Thieren mit Ausnahme von Versuch 12 die Körpertemperatur während des Aufenthaltes im Calorimeter gestiegen ist, so muss noch mehr Wärme produciert worden sein, als abgegeben wurde.

Wie ist nun dieses Verhalten zu deuten? Das Nächstliegende dürfte es wohl sein anzunehmen, dass in Folge der durch die Krämpfe gesteigerten Muskelthätigkeit viel mehr Wärme als in der Norm produciert wird und dass das Thier nun bestrebt ist durch eine gesteigerte Wärmeabgabe der Überhitzung seines Körpers entgegen zu arbeiten. Für gewöhnlich gelingt ihm dies nicht, sondern die Temperatur steigt trotz vermehrter Wärmeabgabe. Dass aber unter Umständen die Wärmeregulation eine zeitlang noch ausreicht und dass trotz vermehrter Wärmeproduktion die Körpertemperatur in Folge der gleichfalls stark vermehrten Wärmeabgabe vorlaüfig noch nicht steigt, dafür bietet ein Beispiel der Versuch 12, bei welchem die Temperatursteigerung erst nach dem Herausnehmen aus dem Calorimeter sich entwickelte.

Es könnte vielleicht Jemand daran denken wollen, dass die *Regulation* auf einen höheren Grad « eingestellt » worden wäre. Indessen ist, ganz abgesehen von dem schnellen Vorübergehen der ganzen Temperatursteigerung die zahlenmässig nachgewiesene ungeheuere Wärmeproduktion ein zur Erklärung so ausreichendes Motiv, dass selbst wir das Bedürfniss eigentlich nicht empfinden, dieser Frage nachzugehen, zumal die colossale Steigerung der Wärmeabgabe und das gelegentliche (siehe Vers. 12) normale Halten der Temperatur den Gedanken an eine Aenderung der Temperatureinstellung gar nicht aufkommen lässt.

Übrigens war der Versuch, durch künstliche Erwärmung und Abkühlung des Thieres in diesem Stadium der Strychninvergiftung festzustellen, bei welchen Graden der Erwärmung oder der Abkühlung es zu regulieren beginne, der Organismus dagegen sich wehrte, nicht durchführbar, da die hoch temperierten Thiere meist durch häufige Krampfanfälle erchüttert, sämtlich verstärkt und frequent athmeten, zeitweise sogar erschöpft am Boden lagen und natürlich die Beobachtung eventueller Regulationserscheinungen (1) unmöglich machten.

---

(1) FILEHNE : Archiv für Anatomie u. Physiologie, 1886. — PAUL RICHTER : *Experimentaluntersuchungen über Antypyrese und Pyrese*. Inaug.-Dissert., Breslau, 1891.

### B. — Zweites Stadium : Temperaturabfall.

Ich constatierte bei den Versuchsthieren ebenfalls erst die Wärmeabgabe in der Norm und vergiftete dann nach einigen Stunden (nachdem das Calorimeter wieder abgekühlt war) die Thiere subcutan mit Strychnin. Durch regelmässig fortgesetzte Messungen beobachtete ich das Verhalten der Temperatur, und sobald ich feststellte, dass die inzwischen unter der Einwirkung des Strychnin gestiegene Körpertemperatur wieder zu sinken begann, also das zweite Stadium der « Abkühlung » eintrat, wurden die Thiere wiederum ins Calorimeter gesetzt und ihre Wärmeabgabe gemessen.

**Protokolle.**

*Versuch 21.*

Kaninchen, ♀, K. G. 2270 gr., normales Thier.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vm. 10 U. 45′ | K. T. : 39,3° | Z. T. : 21,0° | |
| 11 U. 20′ | » 39,2° | » 21,0° | |
| 11 U. 40′ | » 39,0° | » 21,5° | |
| Nchm. 12 U. 11′ | » **39,0°** | » 21,5° | das Thier kommt ins Calorimeter. |

*Calorimetrischer Versuch A : am normalen Thier* bis Nchm. 12 U. 41′.

| Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|
| Nchm. 12 U. 12′ | 2 c.c. |
| 12 U. 13′ | 3 » |
| 12 U. 14′ | 4 » |
| 12 U. 15′ | 3 » |
| 12 U. 16′ | 2 » |
| 12 U. 17′ | 3 » |
| 12 U. 18′ | 3 » |
| 12 U. 19′ | 2 » |
| 12 U. 20′ | 3 » |
| 12 U. 21′ | 2 » |
| 12 U. 22′ | 2 » |
| 12 U. 23′ | (6) » (Correctur) |
| 12 U. 24′ | 2 » |
| 12 U. 25′ | 2 » |
| 12 U. 26′ | 2 » |
| 12 U. 27′ | 2 » |
| 12 U. 28′ | 2,5 » |
| 12 U. 29′ | 2,5 » |
| 12 U. 30′ | 1 » |
| 12 U. 31′ | 2 » |
| 12 U. 32′ | 2 » |
| 12 U. 33′ | 1 » |
| 12 U. 34′ | 1 » |

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|---|
| Nchm. | 12 U. 35′ | 1 c.c. |
| | 12 U. 36′ | 2 » |
| | 12 U. 37′ | 1 » |
| | 12 U. 38′ | (4) » (Correctur) |
| | 12 U. 39′ | 1 » |
| | 12 U. 40′ | 2 » |
| | 12 U. 41′ | 1 » |

Nchm. 12 U. 41′. Das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T. : **38,6°**, Z. T. : 21,4°.

Abgeflossene Wassermenge in 30 Min. : 68 c.c.

*Wärmeabgabe = 4420 Calorieen.*
*Wärmeproduktion = 3666 Calorieen.*

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Nchm. | 1 U. 18′ | K. T. : 38,5° | Z. T. : 21,4° | |
| | 3 U. 45′ | » 38,8° | » 21,3° | |
| | 4 U. 45′ | » 39,0° | » 21,4° | |
| | 5 U. 0′ | » 39,0° | » 21,4° | Injection : 0,8 mgr. Strychnin. nitric. |
| | 5 U. 7′ | » 39,0° | | |
| | 5 U. 14′ | » **39,5°** | | starke Dyspnoë, weite Löffelgefässe. |
| | 5 U. 20′ | » 39,3° | | heftige Krämpfe. |
| | 5 U. 26′ | » 39,3° | | desgl. |
| | 5 U. 33′ | » **39,15°** | » 21,3° | heftige Krämpfe. Das Thier kommt ins Calorimeter. |

*Calorimetrischer Versuch B : am strychninvergifteten Thier* bis Nchm. 6 U. 3′.

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|---|
| Nchm. | 5 U. 34′ | 3 c.c. |
| | 5 U. 35′ | 3 » |
| | 5 U. 36′ | 4 » |
| | 5 U. 37′ | 5 » |
| | 5 U. 38′ | 4 » |
| | 5 U. 39′ | 3 » |
| | 5 U. 40′ | 4 » |
| | 5 U. 41′ | 4 » |
| | 5 U. 42′ | (7) » (Correctur) |
| | 5 U. 43′ | 3 » |
| | 5 U. 44′ | 4 » |
| | 5 U. 45′ | 3 » |
| | 5 U. 46′ | 2 » |
| | 5 U. 47′ | 3 » |
| | 5 U. 48′ | 2 » |
| | 5 U. 49′ | 2 » |
| | 5 U. 50′ | 3 » |
| | 5 U. 51′ | 2 » |
| | 5 U. 52′ | (5) » (Correctur) |

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. |
|---|---|---|
| Nchm. | 5 U. 53′ | 2 c.c. |
| | 5 U. 54′ | 2 » |
| | 5 U. 55′ | 3 » |
| | 5 U. 56′ | 2 » |
| | 5 U. 57′ | 2 » |
| | 5 U. 58′ | (3) » (Correctur) |
| | 5 U. 59′ | 2 » |
| | 6 U. 0′ | 2 » |
| | 6 U. 1′ | 2 » |
| | 6 U. 2′ | 1 » |
| | 6 U. 3′ | 2 » |

Nchm. 6 U. 3′ : das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T. : 38,9°, Z. T. : 21,4°.

Abgeflossene Wassermenge in 30 Min. : 89 c.c.

*Wärmeabgabe = 5785 Calorieen.*

*Wärmeproduktion = 5314 Calorieen.*

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Nchm. 6 U. 3′ | | | | das Thier hat beim Herausnehmen noch verstärkte Athmung und stark erweiterte Löffelgefässe, keine Krämpfe mehr. |
| 6 U. 32′ | K. T. : 38,9° | Z. T. : 21,4° | | |
| 6 U. 50′ | » 38,9° | » 21,4° | | |
| 7 U. 15′ | » 39,2° | » 21,3° | | |
| 7 U. 45′ | » 39,1° | | | das Thier hat sich wieder vollständig erholt. |

*Versuch 22.*

Kaninchen, ♂, K. G. 2000 gr., normales Thier.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 10′ | K. T. : 39,1° | Z. T. : 21,3° | |
| | 11 U. 30′ | » 38,7° | » 21,3° | |
| | 11 U. 35′ | » 38,7° | » 21,3° | |
| Nchm. | 12 U. 12′ | » 38,6° | » 21,3° | |
| | 12 U. 30′ | » 38,5° | » 21,3° | das Thier kommt ins Calorimeter. |

*Calorimetrischer Versuch A : am normalen Thier* bis Nchm. 1 U. 0′

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|---|
| Nchm. | 12 U. 31′ | 2 c.c. |
| | 12 U. 32′ | 3 » |
| | 12 U. 33′ | 3 » das Thier ist unruhig. |
| | 12 U. 34′ | 4 » desgl. |
| | 12 U. 35′ | 3 » desgl. |
| | 12 U. 36′ | 3 » |
| | 12 U. 37′ | 3 » |

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. : |
|---|---|---|
| Nchm. | 12 U. 38′ | 2 c.c. desgl. |
| | 12 U. 39′ | 2 » |
| | 12 U. 40′ | 3 » |
| | 12 U. 41′ | 3 » desgl. |
| | 12 U. 42′ | (4) » (Correctur) |
| | 12 U. 43′ | 3 » |
| | 12 U. 44′ | 2 » |
| | 12 U. 45′ | 2 » desgl. |
| | 12 U. 46′ | 2 » |
| | 12 U. 47′ | 2 » desgl. |
| | 12 U. 48′ | 2 » |
| | 12 U. 49′ | 2 » |
| | 12 U. 50′ | 2 » |
| | 12 U. 51′ | 2 » |
| | 12 U. 52′ | 2 » desgl. |
| | 12 U. 53′ | 2 » |
| | 12 U. 54′ | 1 » |
| | 12 U. 55′ | (6) » (Correctur) |
| | 12 U. 56′ | 3 » |
| | 12 U. 57′ | 1 » |
| | 12 U. 58′ | 1 » |
| | 12 U. 59′ | 2 » |
| | 1 U. 0′ | 1 » |

Nchm. 1 U. 0′ : das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T. : **38,5°**, Z. T. : 21,4°.

Abgeflossene Wassermenge in 30 Min. : 73 c.c.

*Wärmeabgabe = 4745 Calorieen.*

*Wärmeproduktion = 4745 Calorieen.*

Das Thier war während des ganzen Versuches sehr unruhig.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Nchm. 1 U. 5′ | K. T. : 38,9° | Z. T. : 21,4° | | |
| 3 U. 50′ | » 38,9° | » 21,3° | | |
| 4 U. 11′ | » 38,9° | | Injection : 0,8 mgr. Strychnin. nitric. |
| 4 U. 18′ | » 38,9° | » 21 3° | |
| 4 U. 20′ | » 39,1° | » 21,3° | Krämpfe, sehr weite Löffelgefässe. |
| 4 U. 30′ | » **39,6°** | » 21,3° | Krämpfe. |
| 4 U. 34′ | » 39,55° | » 21,3° | desgl. |
| 4 U. 37′ | » **39,85°** | » 21,3° | Krämpfe lassen nach. Das Thier kommt ins Calorimeter. |

*Calorimetrischer Versuch B : am strychninvergifteten Thier* bis Nchm. 5 U. 7′.

| | Zeit : | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. ; |
|---|---|---|
| Nchm. | 4 U. 38′ | 3 c.c. |
| | 4 U. 39′ | 4 » |
| | 4 U. 40′ | 4 » |

| Zeit : | | Abgeflossene Wassermenge pro Min. in c.c. | |
|---|---|---|---|
| Nchm. | 4 U. 41' | 4 c.c. | |
| | 4 U. 42' | 4 » | |
| | 4 U. 43' | 3 » | |
| | 4 U. 44' | 4 » | |
| | 4 U. 45' | 4 » | |
| | 4 U. 46' | (6) » | (Correctur) |
| | 4 U. 47' | 4 » | |
| | 4 U. 48' | 3 » | |
| | 4 U. 49' | 4 » | |
| | 4 U. 50' | 3 » | |
| | 4 U. 51' | 3 » | |
| | 4 U. 52' | 2 » | |
| | 4 U. 53' | 3 » | |
| | 4 U. 54' | 2 » | |
| | 4 U. 55' | (6) » | (Correctur) |
| | 4 U. 56' | 4 » | |
| | 4 U. 57' | 3 » | |
| | 4 U. 58' | 3 » | |
| | 4 U. 59' | 3 » | |
| | 5 U. 0' | 2 » | |
| | 5 U. 1' | 2 » | |
| | 5 U. 2' | 2 » | |
| | 5 U. 3' | 2 » | |
| | 5 U. 4' | 2 » | |
| | 5 U. 5' | (5) » | (Correctur) |
| | 5 U. 6' | 2 » | |
| | 5 U. 7' | 2 » | |

Nchm. 5 U. 7' : das Thier wird aus dem Calorimeter genommen. K. T. : **39,2°**, Z. T. : 21,4°.

Abgeflossene Wassermenge in 30 Min. : 98 c.c.

***Wärmeabgabe = 6370 Calorieen.***

***Wärmeproduktion = 6121 Calorieen.***

Das Thier war während des ganzen Versuches sehr ruhig.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Nchm. | 5 U. 12' | K. T. : | 39,2° | Z. T. : | 21,4° |
| | 5 U. 36' | » | **38,95°** | » | 21,4° |
| | 6 U. 20' | » | 39,0° | » | 21,3° |
| | 6 U. 45' | » | 39,0° | » | 21,3° |
| | 7 U. 15' | » | 39,1° | » | 21,2° |
| | 8 U. 0' | » | 39,0° | » | 21,2° |

Das Thier hat sich wieder vollständig erholt.

## TABELLE III.

| Versuchsnr | K. G. | Strychnindosis in mgr. | Dauer des calorimetr. Versuches in Min. | Normales Thier | | | | Strychninvergiftetes Thier. II. Stadium | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | K. T. vor dem calorim. Vers. | K. T. nach dem calorim. Vers. | Wärme-abgabe in Calorieen | Wärme-produktion in Calorieen | K. T. vor dem calorim. Vers. | K. T. nach dem calorim. Vers. | Wärme-abgabe in Calorieen | Wärme-produktion in Calorieen |
| 21 | 2270 gr. | 0,8 | 30 | 39,0° | 38,6° | **4420** | **3666** | 39,15° | 38,9° | **5785** | **5314** |
| 22 | 2000 » | 0,8 | 30 | 38,5° | 38,5° | **4745** | **4745** | 39,35° | 39,2° | **6370** | **6121** |

Wie man aus den Versuchen ersieht, ist auch im zweiten Theil der Strychninvergiftung die Wärmeabgabe gegen die Norm vermehrt, während die Wärmeproduktion zwar immer noch gegenüber der Norm erheblich vergrössert erscheint, aber gegen die Abgabe zurückbleibt, daher Abkühlung.

Während wir im ersten Stadium der Vergiftung den Grund für die Temperatursteigerung des Thieres in der gesteigerten Wärmeproduktion suchen mussten, welcher die sekundär gesteigerte Wärmeabgabe zwar entgegenzuarbeiten sucht, sich aber schliefslich dieser Aufgabe nicht ganz gewachsen erweist, werden wir aus gleicher Überlegung heraus hier im zweiten Theile, im Stadium des Temperaturabfalles, die gesteigerte Wärmeabgabe als das Primäre auffassen. Bietet doch die ganze Situation des Thieres in diesem Theil der Vergiftung genügend Erklärung für die starke Vermehrung der Wärmeabgabe. Wie oben aus den Protokollen auch zu ersehen ist, liegen die Thiere in diesem Stadium meist erschöpft von den Krämpfen lang ausgestreckt auf der Seite oder auf dem Bauche, halten die Extremitäten weit von sich ab, desgleichen sind die Löffel, deren Gefässe stark blutgefüllt sind, meist aufgerichtet, und regelmässig besteht eine ausserordentlich verstärkte und beschleunigte Athmung; kurz die Thiere verhalten sich wie Individuen, die sich gegen eine zu grosse Überhitzung wehren und möglichst viel Wärme abgeben wollen.

Sehr anschaulich schildern diesen Zustand im Stadium des Temperaturabfalls auch Harnack und seine Mitarbeiter in ihren Protokollen der Vergiftungen mit Strychnin und anderen Krampfgiften.

Es dürfte also wohl dieses Verhalten genügend die starke Vermehrung der Wärmeabgabe erklären. Dass zugleich aber auch die Wärmeproduktion gegenüber der Norm vergrössert ist, findet wohl eine genügende Begründung darin, dass ja auch in diesem Abschnitt der Vergiftung häufig noch eklatante Krämpfe auftreten.

Wir erkennen also, dass in diesem Stadium die vermehrte Wärmeproduktion nicht mehr im Stande ist, die durch die vermehrte Wärme-

abgabe entstehenden Verluste zu decken, daher Abkühlung eintritt. Solange die Eigenwärme über der ursprünglichen, normalen sich befindet, der normalen zustrebt, liegt sicher nicht der mindeste Anlass vor, an eine Aenderung der normalen *Temperatur-Einstellung* zu denken. Diese Frage wirklich zu entscheiden, ist aus demselben Grunde nicht möglich, wie im ersten Theile der Vergiftung. Aber auch wenn die Temperatur bereits nennenswerth unter die Norm gesunken ist, so lässt sich weder durch Erwärmen noch durch Abkühlen der Punkt der Einstellung erkennen, denn die Thiere sind leicht zu erwärmen, leicht abzukühlen, ohne dass eine Gegenregulation sich zeigt, ohne dass irgend etwas in ihrem Verhalten sich ändert, was zweifellos auf die vollkommene Erschöpfung der Thiere zu beziehen ist. Und diese ist es offenbar auch, welche die Thiere einer passiven Abkühlung durch das kühlere, sie umgebende Medium nunmehr anheimfallen lässt, um so mehr als, wie wir alsbald sehen werden, die Störungen der Circulation und das Bedürfniss nach verstärkter Athmung derartige sind, dass sie selbstverständlich zur Erniedrigung der Eigenwärme führen müssen.

Ein besonders wichtiger Faktor für die Wärmeabgabe des Kaninchens ist bekanntlich das Verhalten der Löffel. Denn nicht nur, dass das Thier je nachdem es die Ohren steif aufgerichtet hält oder sie an den Körper dicht anlegt, das eine Mal in den beiden Seiten der Ohrmuschel eine sehr grosse freie Oberfläche zur Abkühlung bietet, die es das andere Mal zum grössten Theil verdeckt hält, kann es auch je nachdem die Löffelgefässe stark oder schwach mit Blut gefüllt sind, einmal sehr viel, das andere Mal nur sehr wenig Blut der Abkühlung in den Ohrmuscheln aussetzen. Der Füllungzustand der Löffelgefässe ist daher von grosser Wichtigkeit für die Wärmeabgabe und kann wohl ohne Weiteres als Massstab für das Verhalten überhaupt der Hautgefässe des Kaninchens dienen.

Bei den strychninvergifteten Thieren waren im Allgemeinen sowohl im ersten, wie im zweiten Theil der Vergiftung die Löffelgefässe stark gefüllt. Dies konnte seinen Grund in einer vasoconstrictorischen Lähmung haben; alsdann musste der Blutdruck in der Aorta zugleich erniedrigt sein; oder aber die starke Gefässerweiterung war passiv und fand unter dem Einfluss eines gesteigerten Blutdruckes statt, event. in Folge Erregung der vasodilatatorischen Centralapparate.

Es schien daher unumgänglich nothwendig, die Verhältnisse des Blutdrucks während des Ablaufes einer Strychninvergiftung zu untersuchen.

## III. — Die Aenderungen des Blutdrucks in der Strychninvergiftung.

Da es mir nicht darauf ankam, den specifischen Einfluss des Strychnins auf das vasomotorische Centrum und das Herz zu untersuchen, sondern die thatsächlichen Aenderungen des Blutdrucks während der verschiedenen Stadien der Strychninvergiftung kennen zu lernen, so schaltete ich natürlich nicht etwa bei meinen Versuchsthieren den Einfluss der Krämpfe durch Curarisieren aus.

In den Versuchen wurden, obwohl ja die Thiere aufgebunden lagen, stets auch fortlaufende Temperaturmessungen gemacht, um eine Orientierung über das Stadium der Vergiftung zu ermöglichen. Allzu schroffe Wärmeverluste wurden durch passende Einhüllung der Thiere vermieden.

### Protokolle.

*Versuch 35.*

Kaninchen, ♀, K. G. 2550 gr., normales Thier.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. 9 U. 30′ | | K. T. : 39,3° | | |
| 10 U. 40′ | | » 39,4° | | |
| 11 U. 5′ | | » 39,4° | | Injection : 0,9 mgr. Strychnin. nitric. |
| 11 U. 17′ | | | | Das Thier läuft steifbeinig schnell im Zimmer umher, starke Dyspnoë, leichte Krämpfe. |
| 11 U. 20′ | | » **39,8°** | | starker Krampfanfall, Thier liegt auf der Seite, Athmungsstillstand, künstliche Athmung; Thier athmet wieder; starke Dyspnoë. |
| 11 U. 23′ | | » 39,8° | | wiederholtes Zittern; Dyspnoë; Thier wird aufgebunden, Canüle in linke Carotis eingebunden. Thier kommt ans *Kymographion*. |
| 11 U. 42′ | B. D. : 119 | | K. T. : 39,45° | zuweilen Unruhe u. Zittern, Blut in der Carotis auffallend dunkel, fortwährend Dyspnoë. |
| 11 U. 50′ | » 90 | | » 39,35° | der Druck sinkt etwas, aber gleichmässig; Unruhe und Zittern nehmen zu, hin und wieder Krämpfe. |
| 11 U. 51′ | » 136 | | » | Krämpfe, der B. D. steigt zuerst hoch, sinkt dann plötzlich. |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 52′ | B. D. : | 71 | | | zugleich tritt Athmungsstillstand ein; künstliche Athmung.; der Druck sinkt nicht weiter. |
| | 11 U. 54′ | » | 71 | K. T. : | 39,5° | das Thier athmet wieder; Dyspnoë; Blut in der Carotis sehr dunkel. |
| | 11 U. 55′ | » | 75 | » | 39,45° | B. D. steigt allmählich wieder; Carotisblut wird immer heller. |
| | 11 U. 58′ | » | 84 | » | 39,4° | |
| Nchm. | 12 U. 2′ | » | 99 | » | 39,3° | |
| | 12 U. 6′ | » | 104 | » | 39,25° | |
| | 12 U. 20′ | » | 104 | » | 39,0° | der B. D. ist jetzt wieder auf normaler Höhe; er sinkt nun aber allmählich ab. |
| | 12 U. 29′ | » | 98 | » | 38,8° | |
| | 12 U. 45′ | » | 92 | » | 38,3° | |
| | 1 U. 18′ | » | 85 | » | 38,2° | |
| | 1 U. 40′ | » | 74 | » | 38,0° | |
| | 2 U. 0′ | » | 72 | » | 37,8° | Das Thier wird losgebunden, und erholt sich nach einiger Zeit wieder, die K. T. bleibt aber niedrig. |
| | 2 U. 15′ | K. T. : | 37,6° | | | |
| | 2 U. 41′ | » | 37,5° | | | |
| | 4 U. 0′ | » | 37,5° | | | |
| | 5 U. 0′ | » | 37,7° | | | |

*Versuch 37.*

Kaninchen, ♀, K. G. 1650 gr., normales Thier.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 32′ | K. T. : | 38,9° | |
| Nchm. | 12 U. 6′ | » | 38,9° | |
| | 12 U. 11′ | | | Injection: 0,7 mgr. Strychnin. nitric. |
| | 12 U. 19′ | | | das Thier steht steifbeinig da. Exophthalmus, Dyspnoë. |
| | 12 U. 21′ | | | schwerer Krampfanfall mit vorübergehendem Athmungsstillstand. |
| | 12 U. 25′ | » | **39,4°** | |
| | 12 U. 39′ | » | 38,5° | noch schwache Krämpfe, Dyspnoë. |
| | 12 U. 50′ | » | 38,6° | desgl. Das Thier kommt ans *Kymographion.* |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Nchm. 12 U. 50' | B. D. : 100 | K. T. : 38,6° | das Thier bleibt am Kymographion ruhig, starke Dyspnoë, der B. D. ist niedrig. |
| 12 U. 55' | » 102 | » 38,4° | |
| 1 U. 0' | » 99 | » 38,4° | |
| 1 U. 5' | » 99 | » 38,3° | |
| 1 U. 27' | » 86 | » 38,2° | das Thier wird wieder losgebunden, erholt sich allmählich. |
| 2 U. 30' | K. T. : 37,3° | | |

*Versuch 38.*

Kaninchen, ♀, K. G. 1500 gr., normales Thier.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Nchm. 3 U. 55' | K. T. : 39,0° | Z. T. : 22,5° | |
| 4 U. 46' | » 39,0° | | |
| 5 U. 10' | » 38,0° | | |
| Thier kommt ans Kymographion. | | | |
| 5 U. 14' | B. D. : 96 | K. T. : 38,0° | |
| 5 U. 17' | » 96 | » 38,0° | Injection : 0,6 mgr. Strychnin |
| 5 U. 21' | » 95 | » 37,9° | nitric. |
| 5 U. 24' | » 95 | » 37,85° | beginnende Dyspnoë. |
| 5 U. 25' | » 98 | » 37,8° | wiederholtes Zusammenzucken, B. D. steigt deshalb. |
| 5 U. 29' | » 100 | » 37,8° | leichte Krämpfe. |
| 5 U. 31' | » **100** | | schwerer Krampanfall, B. D. sinkt nach kurzem Anstieg plötzlich auf : |
| | **50** | | Athmungsstillstand ; künstliche Athg.; Thier athmet wieder von selbst. |
| 5 U. 37' | » 58 | » 38,1° | starke Dyspnoë; Blut sehr dunkel. |
| 5 U. 39' | » 76 | » 38,05° | B. D. steigt allmählich wieder; Dyspnoë besteht fort. |
| 5 U. 41' | » 80 | » 38,0° | |
| 5 U. 50' | » 84 | » 37,85° | |
| 6 U. 10' | » 79 | » 37,75° | Thier wird losgebunden, erholt sich allmählich. |

*Versuch 39.*

Kaninchen, ♀, K. G. 2500 gr., das Thier kommt sofort ans Kymographion.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Nchm. 12 U. 19' | B. D. : 76 | K. T. : 39,2° | |
| 12 U. 20' | | | Injection : 0,7 mgr. Strychnin. nitric. Fortwährend Unruhe, während der B. D. steigt. |
| 12 U. 21' | » 167 | | |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 12 U. 23′ | B. D. : | 81 | K. T. : | 39,1° | Thier wieder ruhig. |
| 12 U. 25′ | » | 85 | » | 39,1° | |
| 12 U. 27′ | | | | | leichte Krämpfe, Unruhe, B. D. |
| 12 U. 28′ | » | 50 | » | 39,05° | sinkt etwas. |
| 12 U. 29′ | » | 117 | » | | plötzlich setzt Dyspnoë ein, B.D. |
| 12 U. 30′ | » | 106 | » | 39,05° | steigt, schwankt sehr. |
| 12 U. 33′ | » | 81 | » | 39,05° | Thier wieder ruhig. |
| 12 U. 34′ | | | | | starke Dyspnoë; heftige Krämpfe, B. D. steigt zuerst bis auf: |
| | » | **162** | | | sinkt dann plötzlich auf: |
| 12 U. 35′ | » | **54** | | | Thier wird ruhiger. |
| 12 U. 37′ | » | 68 | » | 39,1° | leichte Krämpfe. |
| 12 U. 38′ | | | | | desgl., B. D. steigt bis auf: |
| | » | **123** | | | sinkt dann plötzlich auf: |
| 12 U. 39′ | » | **68** | » | 39,1° | wiederholt leichte Krämpfe. |
| 12 U. 43′ | » | 72 | » | 39,05° | |
| 12 U. 46′ | » | 64 | » | 39,0° | Krämpfe, B. D. steigt während derselben auf: |
| 12 U. 47′ | » | **105** | | | sinkt dann plötzlich wieder auf |
| 12 U. 48′ | » | **41** | » | 39,1° | |

Das Thier wird losgebunden Es erholt sich allmählich wieder. Versuch wird abgebrochen.

*Versuch 48* (siehe weiter unten).

Wie sämmtliche Versuche übereinstimmend zeigen, steigt der *Blutdruck* zunächst im ersten Theil der Vergiftung nur ein wenig, wenn die Reflexübererregbarkeit eintritt oder das Thier gelegentlich unruhig zusammenzuckt, während die Athmung beschleunigt erscheint; die Löffelgefässe sind in diesem Stadium gewöhnlich schon erweitert.

Tritt dann mit einem Male, wie z. B. in Versuch 35, 38 und 48, ein schwerer Krampfanfall ein, so steigt der Druck zunächst allerdings schnell in die Höhe (in Vers. 48 von 63 auf 111 mm.), um aber nach wenigen Sekunden schroff abzufallen (in Vers. 48. von 111 auf 17 mm.) Auf dieser niedrigen Höhe hält sich der Druck eine ganze Zeit lang und steigt erst nach mehreren Minuten allmählich wieder an, erreicht aber auch nach längerer Zeit noch nicht die frühere, normale Höhe. Während dieses Stadiums des erniedrigten Druckes nach den Krämpfen sinkt die Körpertemperatur allmählich immer mehr und die Löffelgefässe sind stark erweitert: wir befinden uns also in dem oben schon geschilderten zweiten Stadium der Strychninvergiftung.

Ein auffallendes Verhalten zeigt in dieser Zeit die *Respiration*. Während schon vor dem Krampfanfall die Athmung verstärkt und beschleunigt ist,

kommt es bei einem schweren Anfall regelmässig sofort zum Athmungsstillstand, anscheinend gleichzeitig mit dem Abstürzen des Blutdrucks. Erst ganz allmählich beginnt die Athmung mit vereinzelten Athemzügen wieder einzusetzen, während indessen der Blutdruck langsam steigt. Nach kurzer Zeit athmet das Thier wieder gleichmässig, und es besteht jetzt eine ausgesprochene, starke Dyspnoë bei immer noch erniedrigtem Blutdruck. Beides, sowohl die Blutdruckerniedrigung, wie die verstärkte Athmungsthätigkeit halten auch noch längere Zeit nach dem Krampfanfall vor.

Die Hautgefässe sind nach dem Füllungszustande der Löffelgefässe in diesem Stadium nach den Krämpfen erweitert, und der Druck ist niedrig; man kann daher vermuthen, dass jetzt in Folge einer vasoconstrictorischen Lähmung das Blut sich hat in die Peripherie ergiessen können. Da nun nach allen Analogieen bei *so stark gesunkenem* Blutdruck die in der Zeiteinheit durch den Gesammtquerschnitt des Gefässsystems fliessende Blutmenge als vermindert angenommen werden muss, während das Blut sich in den Venen anhäuft, so strömt bei unseren Thieren wohl sicher auch nur wenig Blut in der Zeiteinheit durch die Lungen und in die Aorta, und damit in die Hirngefässe, was dann selbstverständlich zu Dyspnoë führen müsste und die wirklich vorhandene erklären würde, zumal die vorangegangenen Muskelkrämpfe ausreichend Anlass hierzu liefern. Jener angenommenen vasoconstrictorischen Lähmung geht offenbar zu Beginn des Anfalls der an curarisierten Thieren bekannte und durch die Körpermuskelkrämpfe nothwendiger Weise herbeigeführte Krampf der Gefässmuskulatur voraus, welcher den kurzen Anstieg des Blutdrucks bewirkt. Dieser Gefässkrampf geht dann plötzlich in die Lähmung über, und so entsteht der schroffe Absturz des Blutdrucks im Gegensatz zu dem Verhalten des Blutdrucks bei curarisierten und künstlich ventilierten Thieren.

Dieser Unterschied im Verhalten des Blutdrucks strychninvergifteter Thiere, einerseits wenn sie curarisiert, d. h. krampffrei und ausreichend ventiliert sind, andrerseits Krämpfe haben und auf die eigene Athmung angewiesen sind, nöthigt uns, wie man ohne Weiteres sieht, sowohl die Athmung in quantitativer und qualitativer Beziehung, als auch die Gasverhältnisse ihres Blutes des Genaueren festzustellen.

## IV. — Athmung und äusserer Gaswechsel während der Strychninvergiftung.

Zur Bestimmung der *quantitativen* Verhältnisse der Athmung liess ich die Thiere durch eine Gasuhr athmen und durch von Minute zu Minute

erfolgende Ablesung der Uhr wurde die Athemgrösse, d. h. die von dem Thier innerhalb einer Minute geathmete Luftmenge festgestellt. Von Zeit zu Zeit wurden die Athemzüge in einer Minute gezählt, um die Frequenz der Athmung kennen zu lernen. Die Thiere waren während dieser Versuche aufgebunden und ebenso wie zu den Blutdruckversuchen (s. o.) sorgfältig in Watte verpackt, um sie gegen Abkühlung zu schützen. Sie athmeten durch T-förmige Trachealcanülen, deren freie Schenkel mit Darmventilen verbunden waren, ein Inspirations-und ein Expirationsventil. Vor dem Inspirationsventil war eine Elster'sche Gasuhr eingeschaltet, an welcher die Ablesungen erfolgten. Sämtliche Röhren und Schläuche der Luftleitung waren genügend weit (1 cm.) gewählt, und auch die Ventile wurden vor jedem Versuch auf ihre leichte Beweglichkeit geprüft, so dass das Thier fast ohne jeden Widerstand athmete. Bei einem Versuch (Vers. 48) wurde zu gleicher Zeit am Kymographion der Blutdruck in der linken Carotis gemessen.

Wenn sich die Thiere nach dem Aufbinden und der Operation (Tracheotomie) wieder vollständig erholt hatten und durch wiederholte Ablesungen festgestellt war, dass die Athmung gleichmässig geworden war, wurde das Strychnin subcutan beigebracht und nun in den verschiedenen Stadien der Vergiftung die Athemgrösse und die Frequenz der Athmung bestimmt.

## Protokolle.

### *Versuch 45.*

Kaninchen, ♂, K. G. 2100 gr. Das Thier athmet durch T-Canüle und vorgelegte Ventile; die Inspirationluft geht durch die Gasuhr.

Das Kaninchen war zuerst unruhig (K. T. : 38,8°, Z. T. : 20,0°), als es sich etwas beruhigt hatte und gleichmässig athmete war A. G. : **720** (K. T. : 38,6°, Z. T. : 20,0°).

Nach der *Injection von 0,7 mgr. Strychnin. nitric.* bleibt zunächst A. G. noch niedrig, ist sogar, da das Thier ruhiger geworden, kleiner als in der Norm. = **630** (K. T. : 38,4°).

24 Minuten nach der Injection beginnt sich Reflexübererregbarkeit zu zeigen, es treten wiederholt leichte Reflexkrämpfe und Zusammenzucken des Thieres auf. A. G. : **900**.

28 Minuten nach der Injection bekommt das Thier eine zweite *Injection von 0,4 mgr* : die A. G. ist inzwischen auf **1030** gestiegen (K. T. : 38,5°).

39 Minuten nach der ersten Injection (11 Minuten nach der zweiten) plötzlich ein schwerer Krampfanfall, mit Starrkrampf und Streckkrampf, der zum vorübergehenden Athmungsstillstand führt. Künstliche Athmung.

Nach 3 Minuten athmet das Thier wieder (K. T. : 39,2°), es besteht colossale Dyspnoë, A. G. : **1400, 1920, 2280, 2170, 2330, 2100, 2350** (7 Minuten nach dem Anfall), **2270, 2120, 1960** (10 Min. nach dem Anfall), dabei ist das Blut in der Carotis dunkel.

11 Minuten nach dem Anfall beginnt die Dyspnoë allmählich schwächer zu werden, A. F. noch hoch : 92 p. Min. (K. T. : 38,7°).

20 Minuten nach dem Anfall : A. G. : **1820**; A. F. : 84; K. T. : 38,7°.

24 Minuten nach dem Anfall : A. G. **1390**; A. F. : 84; K. T. : 38,7°; Z. T. : 20,0°. Das Thier erholt sich allmählich wieder. Versuch abgebrochen

*Versuch 48.*

Kaninchen, ♂, K. G. 1800 gr., das Thier liegt am *Kymographion* und schreibt seinen B. D. an, es athmet durch T-Canüle und Ventile, Gasuhr vor dem Inspirationsventil.

| Zeit. | | B. D. | A. G. | A. F. | K. T. | Z. T. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nchm. | 1 U. 14′ | 67 | 420 | | 38,1° | 20,0° | |
| | 1 U. 24′ | 69 | 430 | | 38,1° | | |
| | 1 U. 26′ | | | | | | Injection : *1,0 mgr. Strychnin. nitric.* |
| | 1 U. 28′ | 68 | 450 | 36 | 38,0° | | |
| | 1 U. 34′ | 68 | 460 | 36 | 37,9° | | |
| | 1 U. 37′ | 69 | 430 | | | | |
| | 1 U. 42′ | 73 | 520 | 40 | 37,8° | | Thier ist etwas unruhig. |
| | 1 U. 45′ | 71 | 610 | | | | wiederholte Unruhe. |
| | 1 U. 48′ | | 500 | 36 | | | |
| | 1 U. 51′ | 68 | 720 | 48 | | | sehr unruhig, reflexübererregbar. |
| | 1 U. 53′ | 69 | 920 | 48 | | | leichte Reflexkrämpfe. |
| | 1 U. 54′ | | 750 | 48 | 37,8° | | Unruhe. |
| | 1 U. 58′ | 66 | 760 | | 37,8° | | leichte Unruhe. |
| | 2 U. 0′ | 64 | 720 | | 37,8° | | Löffelgefässe stark gefüllt. |
| | 2 U. 3′ | 64 | 710 | | 37,75° | | Auf Anfassen fährt das Thier zusammen, dabei sinkt stets der B. D. etwas nach leichtem Anstieg. |
| | 2 U. 6′ | | | | | | Injection : *0,3 mgr. Strychnin. nitric.* |
| | 2 U. 8′ | 64 | 730 | | | | |
| | 2 U. 12′ | 63 | 750 | 48 | 37,75° | | wiederholte Unruhe. |
| | 2 U. 15′ | 62 | 680 | | | | |
| | 2 U. 19′ | 63 | 850 | | | | heftiger Krampfanfall mit vorübergehendem Athmungsstillstand, dabei steigt der B. D. auf : |
| | 2 U. 20′ | **111** | 0 | | | | sinkt aber sofort plötzlich ab auf : |
| | 2 U. 21′ | **17** | 0 | | | | bei künstlicher Athmung hebt sich der B. D. wieder auf : |
| | 2 U. 22′ | (57) | | | | | das Thier athmet wieder. B. D. niedrig. |
| | 2 U. 24′ | 28 | **1090** | | | | Blut dunkel, starke Dyspnoë. |
| | 2 U. 25′ | 32 | **1350** | 88 | | | |
| | 2 U. 26′ | 45 | **1240** | | 38,2° | | |

| | Zeit. | B. D. | A. G. | A. F. | K. T. | Z. T. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nach. | 2 U. 28' | 50 | **1460** | | | | |
| | 2 U. 30' | 52 | **1900** | | | | |
| | 2 U. 31' | — | **1540** | | | | |
| | 2 U. 32' | — | 1470 | | | | |
| | 2 U. 33' | — | 1350 | | | | |
| | 2 U. 34' | — | 1260 | | | | |
| | 2 U. 35' | — | 1240 | | 37,95° | | Carotisblut wieder hell. — Versuch abgebrochen. |

*Versuch 46* (siehe weiter unten).

*Versuch 55* (siehe weiter unten).

Wie diese Versuche zeigen, wächst mit Eintritt der Reflexübererregbarkeit und der Unruhe die Athemgrösse und Athemfrequenz, während der Blutdruck in dieser Zeit etwas erhöht ist (siehe Vers. 48). Die Athemgrösse kann bis auf die doppelte Höhe steigen (Versuch 45, 46, 55). Kommt es dann zu einem heftigen Krampfanfall, so tritt vorübergehend vollständiger Athmungsstillstand ein. Ist dieser zu Ende — eventuell unter Nachhülfe mit künstlicher Lüftung der Lungen, — und fängt das Thier wieder an selbstständig zu athmen, so setzt eine ganz gewaltige Athmung ein : die Athemfrequenz verdoppelt sich, die Athemgrösse kann das drei-bis vierfache der Norm erreichen. Wir haben es also hier mit einer ganz colossalen Lüftung der Lungen zu thun. Es ist dies — nebenbei bemerkt, — die Zeit, zu welcher der Blutdruck (s. o.) gegen die Norm erheblich erniedrigt is.

Zur Feststellung der *qualitativen* Verhältnisse des äusseren Gaswechsels in diesem zuletzt beschriebenen Stadium mussten Analysen der Expirationsluft angestellt werden, um aus diesen, sowie aus der Athemgrösse die vom Thier abgegebene $CO_2$ und den aufgenommenen O kennen zu lernen.

Ich verfuhr hierbei nach dem Vorbilde von GEPPERT und ZUNTZ und benützte die von diesen angegebene Methode der Probeentnahme aus der Expirationsluft. Die Thiere athmeten wie bei den vorigen Versuchen durch Ventile, die Gasuhr war aber hinter dem Expirationsventil eingeschaltet, wo auch die Probeentnahme erfolgte. Diese entnommenen Luftproben, welche in ihrer procentischen Zusammensetzung genau der Expirationsluft zu dem Zeitpunkte der Entnahme entsprechen, wurden in einem GERPERT'schen Gasanalysenapparat analysiert. Der von mir benützte, im Institut befindliche Apparat ist ungefähr ebenso gebaut, wie

ihn GEPPERT in seiner letzten Veröffentlichung(1) beschreibt. Im Eudiometer wurden nur die Ablesungen gemacht, während die Absorptionen in anderen Gefässen stattfanden. Die $CO_2$ wurde mit Kali, der O mit Phosphor, später mit Pyrogallussäure absorbiert. Durch wiederholte Controllablesungen und öfteres Überführen der Gasproben in die Absorptionsgefässe wurde eine möglichste Genauigkeit der Analysen zu erzielen gesucht.

### Protokolle.

*Versuch 55.*

Kaninchen, ♀. K. G. 3600 gr. Das Thier athmet durch T-Canüle und Ventile, die Expirationsluft geht durch die Gasuhr—Probeentnahme zwischen Expirationsventil und Gasuhr.

Nachdem sich das Thier von der Operation etc., erholt hat, ist : A. G. = **950**, A. F. = 72 p. Minute, K. T. : 38,9°, Z. T. : 19,7°. — I. *Probeentnahme* der Expirationsluft während 3 Minuten.

Nach einer kurzen Pause (7 Min.) Injection von *1,2 mgr. Strychnin. nitric.* — Die A. G. bleibt zunächst normal, das Thier ist ruhig. K. T. : 38,75°, Z. T. : 19,7°.

9 Minuten nach der Injection wird das Thier unruhig, es tritt Dyspnoë ein. A. G. und A. F. steigen. — A. G. : **2200, 2200, 2140, 2280, 2410.** — A. F. : 96.

14 Minuten nach der Injection ein heftiger Krampfanfall mit Athmungsstillstand, künstliche Athmung. — Nach 2 Minuten athmet das Thier wieder. — Dyspnoë, Carotisblut dunkel.

17—20 Minuten nach der Injection II. *Probeentnahme* der Expirationsluft. A. G. : **3000.**

21 Minuten nach der Injection, A. G. : **3000**, K. T. : 39,1°.

22 » » » » A. G. : **2620**, weiter **2650, 2670, 2620, 2580, 2400.**

Die A. G. nimmt nun allmählich weiter ab. — K. T. : 38,95°.

Versuch abgebrochen.

## TABELLE IV.

| Entnahme | Zustand des Thieres | K. T. °C | A. G. pro Min. | Gefundene Procente $CO_2$ | Gefundene Procente O | Gefundene Procente N | Berechnetes O-deficit | O-Aufnahme pro kgr. Thier und Min. | $CO_2$-Abgabe pro kgr. Thier und Min. | Respir.-Quotient |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | normal | 38,9° | 950 c.c. | 3,032 | 16,73 | 80,24 | 4,51 | 16,47 | 11,08 | 0,67 |
| II | *nach* Strychninkrämpfen | 39,1° | 3000 » | 2,476 | 19,08 | 78,44 | 1,685 | 19,44 | 28,57 | 1,47 |

In obigem Versuch ist also, wie vielleicht erwartet werden konnte, die $CO_2$-abgabe um fast das Dreifache gestiegen (von 11.08 auf 28.57

(1) J. GEPPERT : *Zur Methodik der Gasanalyse und Blutauspumpung.* Pflüger's Archiv, Bd. 69, p. 472.

pro Kg. Thier und Minute) und ebenso hat das Thier in der um mehr als das dreifache verstärkten Athmung (von 950 c.c. auf 3000 c.c. pro Minute) mehr O als in der Norm aufgenommen. Es kann nicht auffallen, dass in unserem Thiere nach vorausgegangenem heftigen Muskelkrampf so colossale Mengen von $CO_2$ der Expedierung harrten und durch die so sehr verstärkte Athmung auch wirklich hinausgeschafft wurden, während nummerisch die Mehraufnahme von O hinter der $CO_2$-abgabe zurück bleibt.

Wie die qualitative und quantitative Untersuchung des Gaswechsels zeigt, besteht also sowohl zu Beginn der Krämpfe wie namentlich nach einem mit Athmungsstillstand verbundenen, heftigen Krampfanfall eine ausserordentlich starke Dyspnoë, in welcher das Thier die grosse Menge $CO_2$, welche durch die Muskelthätigkeit während der Krämpfe gebildet werden, ausathmet und auch seinen Bedarf an Sauerstoff ausgiebig deckt. Es erscheint selbstverständlich, dass die durch die Krämpfe und wohl auch später durch den Athmungsstillstand bewirkte $CO_2$-anhäufung in Muskeln und Blut oder der gleichfalls nothwendigerweise eintretende O-mangel oder vielleicht auch beide Faktoren gemeinsam neben der gewaltigen Circulationsstörung, wie sie durch das erhebliche Sinken des Blutdrucks gekennzeichnet ist, den Reiz für diese constatierte, mächtige Steigerung der Athmungsthätigkeit abgeben.

Um hier klarer zu sehen, erschien es nothwendig, die Blutgase in den verschiedenen Stadien der Strychninvergiftung zu untersuchen.

## V. — Die Blutgase während der Strychninvergiftung.

Zur Gewinnung der Blutgase wurde den Versuchsthieren in der Norm und in dem zu untersuchenden Stadium der Vergiftung eine Blutprobe von gemessenem Volumen entnommen und diese entgast. Die Blutentnahme erfolgte in sämmtlichen Versuchen direkt an der Luftpumpe in der Weise, dass das Blut aus der einen Carotis unmittelbar in das Messgefäss eines GEPPERT'schen Blutrecipienten einströmte. Die Entgasungen geschahen nach der von GEPPERT angegebenen Methode in zwei PFLÜGER'schen Quecksilberluftpumpen, welche beide ungefähr nach der von GEPPERT für diesen Zweck angegebenen Modifikation gebaut waren. Auch bei der Ausführung der Entgasungen wurde ganz nach GEPPERT's Vorschrift verfahren. Die gewonnenen Blutgase wurden dann in dem GEPPERT'schen Gasanalysenapparat, wie oben beschrieben, untersucht.

Nachdem zunächst der Gasgehalt des Blutes in der Norm festgestellt war, erfolgte nach der Strychnindarreichung eine zweite Blutentnahme,

wenn das betreffende Stadium der Vergiftung eingetreten war. Bei einigen Versuchen wurde nicht im normalen Zustand die eine Entnahme vorgenommen, sondern beide Blutproben stammten aus zwei verschiedenen Abschnitten der Vergiftung. — In Versuch 46 athmete das tracheotomierte Thier ausserdem durch die Gasuhr, und es wurde die Athemgrösse notiert. — Da also an jedem Thiere zweimal Blut zur Entgasung entnommen wurde, so wurde darauf gesehen, dass die Thiere für diese Versuche nicht zu klein waren, damit nicht hieraus Complikationen (Armuth an rothen Blutkörperchen bei der zweiten Entnahme) erwüchsen. Nur ein Mal, in Versuch 44, musste, da kein grösseres Thier zur Verfügung stand, ein kleines Thier von nur 1550 g. zum Versuch benützt werden, das allerdings durch den Eingriff (Aderlass, Strychninvergiftung) schwer geschädigt wurde.

Da es vor allem darauf ankam die Blutgase in dem Stadium der stärksten Dyspnoë bei niedrigem Drucke *nach* den Krämpfen kennen zu lernen, so wurde zunächst (Versuch 40, 41, 46) Blut unmittelbar nach einem Krampfanfall, als die colossale Athmung schon kräftig eingesetzt hatte, entnommen, dann aber auch einige Zeit später, während die starke Dyspnoë aber noch fortbestand (so in Versuch 44, 47, 49). Ausserdem wurden noch (in Versuch 40, 41, 42) die Blutgase während der schon verstärkten Athmung *vor* den Krämpfen untersucht.

**Protokolle.**

*Versuch 40.*

Kaninchen, ♂, K. G. 3000 gr., normales Thier; aufgebunden, Canüle zur Blutentnahme in der einen Carotis.

| | | |
|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 55′ | K. T. : 38,6° Z. T : 17,4° Injection : *0,7 mgr. Strychnin. nitric.* |
| | 11 U. 59′ | Beginn der Dyspnoë, K. T. : 38,7°. |
| Nchm. | 12 U. 2′ | stärkere Dyspnoë, K. T. : 38,65°. *I. Blutentnahme.* |
| | 12 U. 15′ | schwache Reflexkrämpfe. |
| | 12 U. 20′ | Injection von *0,2 mgr. Strychnin. nitric.* |
| | 12 U. 28′ | Reflexübererregbarkeit, starke Dyspnoë, Löffelgefässe erweitert. |
| | 12 U. 35′ | starke Reflexkrämpfe, darauf stärkste Dyspnoë, K. T. : 38,4°. *II. Blutentnahme* nach den Krämpfen. |
| | 12 U. 41′ | das Thier wird losgebunden, dabei heftige Krämpfe; es erholt sich aber wieder. |

Die Blutgasanalysen ergaben :

I. Blutprobe : 42,54 % $CO_2$, 11,273 % O.

II. Blutprobe : — 8,43 % O (die $CO_2$-zahl ging verloren).

*Versuch 41.*

Kaninchen, ♂, K. G. 2500 gr., normales Thier, aufgebunden etc. wie im vorigen Versuch.

Vm. 11 U. 2' Injection von *0,7 mgr. Strychnin. nitric.*
11 U. 17' starke Dyspnoë.
11 U. 19' I. *Blutentnahme.* — K. T. : 39,1°, Z. T. : 14,3°.
11 U. 25' Reflexübererregbarkeit nimmt zu.
11 U. 36' Injection von *0,3 mgr. Strychnin. nitric.* — K. T. : 38,6°.
11 U. 50' starke Krämpfe, die lange Zeit (5 Minuten) andauern, dann kurze Ruhe mit starker Dyspnoë, sofort aber Wiedereinsetzen der Krämpfe, stärkster Anfall mit vorübergehendem Athmungsstillstand. — Das Thier athmet wieder.
11 U. 59' *unmittelbar* darauf stärkste Dyspnoë; *II. Blutentnahme.* — K. T. : 38,4°, Z. T. : 14,3°.
Nchm. 12 U. 5' Das Thier wird losgebunden, bekommt einen äusserst heftigen Anfall, in dem es stirbt.

Die Blutgasanalysen ergaben :

I. Blutprobe : 25,64 °/o $CO_2$, 17,70 °/o O.
II. Blutprobe : 23,36 °/o $CO_2$, 1,847 °/o O.

*Versuch 42.*

Kaninchen, ♂, 2200 gr. schwer, normales Thier, aufgebunden etc. wie oben.

Nchm. 5 U. 29' K. T. : 39,5° Z. T. : 22,5° — *I. Blutentnahme.*
5 U. 31' Injection von *0,7 mgr. Strychnin. nitric.*
5 U. 40' Dyspnoë ; Reflexübererregbarkeit beginnt.
5 U. 45' Dyspnoë nimmt zu. — K. T. : 39,3°, Z. T. : 21,3°. — *II. Blutentnahme.*
5 U. 55' Thier wird losgebunden; darauf bekommt es heftige, lang andauernde Krämpfe.
5 U. 58' Thier stirbt im Krampfanfall.

Die Blutgasanalysen ergaben :

I. Blutprobe : 38,44 °/o $CO_2$, 19,57 °/o O.
II. Blutprobe : 33,45 °/o $CO_2$, (O-zahl geht verloren).

*Versuch 44.*

Kaninchen, ♂, K. G. 1550, normales Thier, aufgebunden etc. wie oben.

Nchm. 12 U. 56' K. T. : 38,6° Z. T. : 20,0° — I. *Blutentnahme.*
1 U. 3' Injection von *0,7 mgr. Strychnin. nitric.* — K. T. : 38,2°.
1 U. 13' leichte Reflexkrämpfe. — K. T. : 37,8°.
1 U. 20' starker Krampfanfall, der etwa 4 Minuten andauert, mit vorübergehendem Athmungsstillstand.
1 U. 24' beginnt das Thier wieder zu athmen, ist sehr erschöpft.
1 U. 29' *II. Blutentnahme.* — Das Blut fliesst nur sehr langsam aus der nur wenig bluthaltigen Carotis. — K. T. : 37,8°.
1 U. 32' das Thier wird losgebunden; es liegt erschöpft auf der Seite, athmet nur schwach.

Nehm. 1 U. 34' ein kurzer Krampfanfall, das Thier stirbt, die Carotis ist fast blutleer.

Die Blutgasanalysen ergaben :

I. Blutprobe : 48,12 % $CO_2$, 12,58 % O.

II. Blutprobe : 11,42 % $CO_2$, 12,84 % O.

*Versuch 46.*

Kaninchen, ♂, K. G. 2750 gr., normales Thier, aufgebunden, Canule zur Blutentnahme in der einen Carotis, tracheotomiert, athmet durch T-Canüle und Ventile, Gasuhr vor dem Inspirationsventil.

Nachdem sich das Thier beruhigt hat, A. G. : 1100, A. F. : 80, K. T. : 39,1°. — I. *Blutentnahme.*

Nach 15 Minuten Injection von *1,0 mgr. Strychnin. nitric.* — K. T. : 38,5°. Das Thier bleibt zunächst ruhig, A. G. : 1000, A. F. : 76.

11 Minuten nach der Injection wird das Thier unruhig. A. G. : 1440, A. F. : 84, K. T. 38,3°.

20 Min. nach der Injection beginnt die Reflexübererregbarkeit. A. G. : 1720, A. F. : 80, K. T. : 38,7°.

39 Minuten nach der ersten Injection noch eine zweite *Injection von 0,2 mgr.* A. G. : 1690, A. F. : 80, K. T. : 38,9°.

Die Dyspnoë nimmt immer mehr zu.

50 Minuten nach der ersten Injection A. G. : 1800, 1850, 1900, 2000. A. F. : 112.

58 Minuten nach der ersten Injection sehr heftiger etwa 3 Minuten andauernder Krampfanfall mit vorübergehendem Athmungsstillstand. Darauf Einsetzen heftigster Dyspnoë. A. G. : 2700, A. F. : 108.

2 Minuten nach dem Ende des Krampfanfalls II. *Blutentnahme.* Das Blut ist tief dunkel und fliesst langsam. — K. T. : 39,8°.

Es besteht stärkste Dyspnoë. A. G. : 2630, 2700, 2730, 2760, 2740. A. F. 108.

15 Minuten nach dem Anfall hat die Dyspnoë etwas abgenommen, A. G. : 2460, A. F. : 108. Das Carotisblut ist wieder heller geworden. — K. T. : 39,3°.

Der Versuch wird abgebrochen, das Thier losgebunden, es erholt sich allmählich.

Die Blutgasanalysen ergaben :

I. Blutprobe : 38,503 % $CO_2$, 16,204 % O.

II. Blutprobe : 13,866 % $CO_2$, 1,157 % O.

*Versuch 47.*

Kaninchen, ♂, K. G. 2000 gr., normales Thier, aufgebunden etc., wie in Vers. 46.

Nachdem sich das Thier beruhigt hat, sind A. G. : 430, A. F. : 40, K. T. : 37,7°, Z. T. : 18,8°. Injection von *1,0 mgr. Strychnin. nitric.*

Das Thier bleibt zunächst noch ruhig. A. G. : 430, A. F. : 44, K. T. : 37,4°.

11 Minuten nach der Injection beginnt die Unruhe und leichte Reflexkrämpfe.

13 Minuten nach der Injection setzt ein äusserst heftiger Krampfanfall mit vorübergehendem Athmungsstillstand ein. — Das Thier athmet wieder — starke Dyspnoë. A. G. : 930. Gleich darauf wieder heftige Krämpfe, wiederum zeitweiliger Athmungsstillstand.

Sobald die Athmung wieder ordentlich, und zwar stark dyspnoïsch eingesetzt hat,

*I. Blutentnahme.* — Durch eine falsche Hahnstellung geht diese Blutprobe verloren, daher — ca. 5 Minuten später — noch eine *II. Blutentnahme* vorgenommen wird. Das Blut erscheint weit heller, als bei der ersten Entnahme; Athmung noch dyspnoïsch. — A. G. : 670. — Das Thier wird abgebunden und erholt sich rasch.

Die Gasblutanalyse ergab :

II. Blutprobe : 22,53 % $CO_2$, 15,34 % O.

*Versuch 49.*

Kaninchen, ♀, K. G. 2100 gr., normales Thier, aufgebunden etc. wie in Vers. 40.

Nchm. 5 U. 30' K. T. : 38,7° Injection : *1,0 mgr. Strychnin. nitric.*

5 U. 37' Beginn der Reflexübererregbarkeit. — K. T. : 38,9°.

5 U. 43' leichte Krämpfe.

5 U. 47' heftiger Krampfanfall, der etwa 2 Minuten dauert, vorübergehender Athmungsstillstand.—Thier athmet wieder, starke Dyspnoë.

5 U. 53' *I. Blutentnahme.* Blut ziemlich hell. Der Versuch wird abgebrochen, da das Thier anderweitig verwandt werden soll.

Die Blutgasanalyse ergab :

I. Blutprobe : 17,82 % $CO_2$, 13,67 % O.

## TABELLE V.

| Versuchsnr | K. G. des Thieres | BLUTGASE IN % | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | des normalen Thieres | | der strychninvergifteten Thiere | | | | | |
| | | | | *vor* den Krämpfen | | *unmittelbar nach* den Krämpfen | | *einige Zeit nach* den Krämpfen | |
| | in gr. | $CO_2$ | O | $CO_2$ | O | $CO_2$ | O | $CO_2$ | O |
| 40 | 3000 | | | 42,54 | 11,273 | — | **8,43** | | |
| 41 | 2500 | | | 25,64 | 17,70 | 23,36 | **1,847** | | |
| 42 | 2200 | 38,44 | 19,57 | 33,45 | — | | | | |
| 44 | 1550 | 48,12 | 12,58 | | | | | 11,42 | 12,84 (1) |
| 46 | 2750 | 38,503 | 16,204 | | | 13,866 | **1,157** | | |
| 47 | 2000 | | | | | | | 22,53 | 15,34 (2) |
| 49 | 2100 | | | | | | | 17,82 | 13,67 |

Was den Gasgehalt des Blutes vor den Krämpfen anbelangt, so finden wir ein — wohl je nach dem Grade der Lüftung — mehr oder weniger gut arterialisiertes Blut. Es bietet dieses Stadium nichts Bemerkenswerthes.

Um so interessanter ist das Verhalten der Blutgase *nach* den Krämpfen. Wir sehen nämlich, dass die unmittelbar nach dem Krampfanfall einsetzende Dyspnoë wohl im Stande ist, den grössten Theil der im verstärkten Masse producierten $CO_2$ herauszuschaffen, so dass wir wenige Minuten nach den heftigsten Krämpfen nur noch 23,3 oder gar blos

(1) Schon in Agone.

(2) Zweite Blutentnahme.

13,8 % $CO_2$ im Blute finden. Trotz dieser verstärkten Athmung sehen wir aber, wenn auch nur für eine ganz kurze Zeit, das Blut O-arm. Während das Thier mit einer enorm verstärkten Athmung daliegt (in Vers. 46 ist die Athemgrösse von 1000 auf 2700 c.c. gestiegen), weist das Blut doch nur einen O-gehalt von 8,43 %, ja sogar (in Versuch 41) von 1,84 % und (in Versuch 46) von 1,15 % auf. Wir haben also hier in diesen Versuchen übereinstimmend eine colossale Verarmung des Blutes an O. Diese hält allerdings nicht lange vor, sondern nach ganz kurzer Zeit (etwa 5 Minuten) finden wir das Blut auch in Bezug auf O wieder ganz gut arterialisiert (13,67 % in Vers. 49; 15,34 % in Vers. 47). Und auch bei dem kleinen Thier in Versuch 44, bei welchem die — zweite — Blutentnahme schon fast in Agone erfolgte, besitzt das Blut 12,84 % O, eine hohe Zahl bei dem schon etwas blutarmen Thiere; aber vielleicht wurde grade hier, da das Blut in Folge der erlahmten Herzkraft nur ganz langsam durch die gut gelüfteten Lungen floss, das Blut besonders gut arterialisiert, besitzt es doch bloss noch 11,42 % $CO_2$.

Dieser unmittelbar nach den Krämpfen auftretende O-mangel im Blute ist um so auffallender, als der Blutdruck zu dieser Zeit niedrig ist und das Blut daher auch nur langsam durch die ja so überaus gut ventilierten Lungen fliesst und somit genügend O aufnehmen könnte. Bei den Blutentnahmen in diesem Stadium floss auch stets das Blut langsamer als normaler Weise aus dem Gefäss.

Da das Blut zu dieser Zeit dabei nur wenig $CO_2$ enthält, so ist die Annahme, dass die Lüftung der Lungen trotz der beobachteten verstärkten Athmung nicht ausreiche, dass aus irgend welchen Gründen nicht genügend Luft mit dem Blute in den Alveolen zusammenträfe, sei es z. B. wegen Krampfes in den äussersten Luftwegen oder auch in den Lungenarterien, nicht angängig. Käme ein solcher Moment in Frage, so wäre es unmöglich, dass das Blut seine $CO_2$ abgeben könnte, was aber thatsächlich doch der Fall ist.

Es bleibt daher nur die Alternative, dass entweder weniger O aufgenommen wird — hiergegen scheint unser Befund der vermehrten O-aufnahme zu sprechen, — oder der vom Blute aufgenommene O in der Zeit bis zur Blutentnahme im Blute irgendwie verschwunden, z. B. durch reducierende Substanzen festgebunden ist.

Hier ist zunächst zu bemerken, dass diese Zeit der O-armuth nur eine äusserst kurze ist und dass wir nicht etwa bei demselben Thier gleichzeitig eine vermehrte Aufnahme von O aus der Einathmungsluft und gleichzeitig bestehende Verminderung des O im Aortenblute festgestellt

haben. Es ist also sehr leicht möglich, ja gradezu wahrscheinlich, dass die vermehrte O-aufnahme aus der Inspirationsluft dem so schnell wieder eintretenden Stadium des O-reichthums des Blutes angehört. Doch aber glaubte ich einem etwaïgen Auftreten ungeheurer Mengen *reducierender Substanzen* im Blute nach Strychninkrämpfen nachspüren zu sollen. Wenn diese Stoffe auftreten sollten, so konnten sie doch wohl nur die Consequenz der vorausgegangenen, heftigen Muskelkrämpfe sein. Denn daran kann doch wohl nicht gedacht werden, dass das Strychnin durch eine *specifische* Wirkung, d. h. unabhängig von den von ihm erzeugten Krämpfen just nur jedes Mal nach einem Krampfanfall und nur für drei bis fünf Minuten eine solche Flut von reducierenden Substanzen erscheinen liesse. Daher konnte unsere Frage klar, wenn auch indirect, auf folgende Weise entschieden werden :

Es wäre nämlich nur nöthig festzustellen, ob nach genau ebensolchen, aber nicht durch Strychnin herbeigeführten Krämpfen dieselbe Erscheinung zu beobachten sei.

Zu diesem Zwecke stach ich einem normalen Kaninchen zwei starke nadelförmige Elektroden von der sekundären Rolle eines Induktionsapparates ins Rückgrat, die eine in der Höhe des letzten Halswirbels, die andere in der Höhe der Lendenwirbel, durch Schliessen und zeitweiliges Oeffnen des Stromes konnte ich so bei geeignetem Rollenabstand Krämpfe genau in derselben Weise wie bei der Strychninvergiftung erzielen, in deren Verlauf ebenfalls schliesslich Athmungsstillstand eintrat. Um die Verhältnisse der Athmung bei diesem Versuche möglichst genau denen bei einem Strychninversuche gleichzumachen, so hatte ich das Thier vorher tracheotomiert und liess es durch eine Gasuhr athmen, an welcher ich die Athemgrösse ablas.

**Protokolle.**

*Versuch 50.*

Kaninchen, ♂, K. G. 1800 gr., normales Thier, aufgebunden etc., wie bei Vers. 46.

| | | |
|---|---|---|
| Vm. | 11 U. 55′ | A. G. : 540, A. F. : 48 K. T. : 38,1° Z. T. : 17,8° Das Thier ist sehr ruhig. |
| Nchm. | 12 U. 4′ | werden die Elektrodennadeln eingestochen (s. o.) |
| | 12 U. 5′ | Probereizung. |
| | 12 U. 9′ | das Thier ist wieder ruhig ; Verhalten der Athmung und K. T. wie zu Beginn des Versuches. |
| | 12 U. 10′ | *Reizung.* — Beginn der Krämpfe, zuerst Dyspnoë (A. G. : 800), dann zeitweiliger Athmungsstillstand. |
| | 12 U. 12′ | Aufhören der Reizung ; Thier athmet wieder, starke Dyspnoë. I. *Blutentnahme.* A. G. : 1620, 1440. |

| | |
|---|---|
| Nchm. 12 U. 20' | Das Thier hat sich wieder vollständig beruhigt. |
| 12 U. 26' | K. T. : 37,60. |
| 12 U. 27' | *Beginn der Reizung.* — Krämpfe und Verhalten der Athmung wie oben. |
| 12 U. 28' | Aufhören der Reizung. Das Thier athmet sofort stark dyspnoïsch. Nach dem 3. Athemzuge *II. Blutentnahme.* Das Blut ist schon wieder auffallend hell. — K. T. : 37,7°. — Versuch abgebrochen. |

Die Blutgasanalysen ergaben :

I. Blutprobe : 26,23 % $CO_2$, 15,99 % O.

II. Blutprobe : 15,11 % $CO_2$, 14,63 % O.

Wie man sieht, setzte auch hier unmittelbar nach dem bis zum Athmungsstillstand führenden Krampfanfalle eine enorm verstärkte Athmungsthätigkeit ein, die Athemgrösse war von 540 auf 1620 c.c. gestiegen. Indessen zeigt das Blut nichts von den Erscheinungen des Strychninblutes, und selbst bei der zweiten Entnahme, welche bereits nach dem dritten Athemzuge nach einem Krampfanfall stattfand, besitzt das Blut schon wieder 14,63 % O, wobei doch zu berücksichtigen ist, dass dies eine zweite Blutentnahme bei einem verhältnissmässig kleinen Thier (K. G. 1800 g.) ist.

Es scheint also dies auffallende Verhalten des O bei der Strychninvergiftung nicht durch die Anwesenheit massenhafter reducierender Substanzen bewirkt zu werden, durch welche etwa der reichlich aufgenommene O verschwände. Es muss daher vielmehr an eine Veränderung des Blutfarbstoffes von der Art gedacht werden, dass die normale Leichtigkeit der losen O-bindung vermindert ist und dass nur nach längerer und energischer Zuleitung von O die normalen Mengen von O aufgenommen werden. — Es könnte eine derartige Wirkung nicht auffallen, da das Strychnin ein Derivat des Blutkörperchengiftes Anilin ist(1).

Zur Prüfung dieses Gedankens und zur Erledigung einiger anderen, wenn auch fernliegenden Möglichkeiten (Schwierigkeiten der O-diffusion u. a.) schien es wünschenswerth, das Blut der strychninvergifteten Thiere in jenem Stadium der O-armuth und heftiger Dyspnoë direct mit Luft zu schütteln und dann gasanalytisch auf seinen Gasgehalt zu prüfen.

Einem schwer mit Strychnin vergifteten Thiere wurde unmittelbar nach einem mit Athmungsstillstand verbundenen Krampfanfalle, als eben die Athmung einsetzte, eine grössere Menge (20 c.c.) Blut aus der vorher freigelegten und mit eine Canüle versehenen Carotis entnommen. Das tief

(1) Siehe TAFEL : LIEBIG's Annal., 1892, 268, 229. — Berichte d. Deutsch. Chem. Gesellsch., 1893, Bd. 26, S. 333.

dunkle Blut floss ziemlich langsam aus dem Gefäss und wurde in einer verhältnissmässig grossen (100 c.c. fassenden) Flasche, in welcher ein paar Glasperlen sich befanden, aufgefangen. Das Blut wurde nun etwa eine Minute lang in dieser Flasche, deren Oeffnung nur mit dem Finger zugehalten und dazwischen wiederholt geöffnet wurde, geschüttelt. Alsdann wurde das Blut, welches immer noch trotz des heftigen Schüttelns mit Luft dunkel aussah, mittels eines mit Trichter versehenen Gummischlauches in das Messgefäss eines Blutrecipienten gefüllt und in der Luftpumpe evacuiert. Der in der Flasche zurückgebliebene Rest des Blutes wurde weiter mit Luft geschüttelt, nahm aber erst nach weiteren zwei Minuten die schöne rothe Farbe eines gut arterialisierten Blutes an.

**Protokolle.**

*Versuch 52.*

Kaninchen, ♀, K. G. 3400 gr., normales Thier, aufgebunden etc., wie in Vers. 40.

Nchm. 1 U. 18′ K. T. : 39,6° Z. T. : 19,5° Injection : *1,0 mgr. Strychnin. nitric.*

1 U. 37′ K. T. : 39,9°.

1 U. 40′ starker Krampfanfall mit Athmungsstillstand. Sowie das Thier wieder anfängt zu athmen : *Blutentnahme*, etwa 20 c c. Das Blut ist tief dunkel und fliesst sehr langsam. Das aus der Ader gelassene Blut wird in einer Flasche mit Luft 1 Minute lang geschüttelt, dann ein Theil davon entgast, etc., s. o.

1 U. 45′ Das Thier hat noch einige Krampfanfälle, ist — wohl auch durch den Blutverlust — sehr erschöpft und stirbt.

1 U. 50′

Die Blutgasanalyse ergab :

20,41 % $CO_2$, **5,948** % O.

Das ausserhalb des Thierkörpers mit Luft geschüttelte Blut hatte also seine $CO_2$ schon zum grössten Theile wieder abgegeben, so dass es bloss noch 20,4 % besass. Sein O-gehalt betrug aber trotzdem nur 5,9 %.

Dieser Versuch scheint also zu beweisen, dass das Schütteln ausgereicht hat, die grossen Mengen $CO_2$ herauszuschaffen, das Blut trotzdem aber nur wenig O aufgenommen hat, während es erst nach längerem Schütteln mit Luft die normale arterielle Farbe annahm.

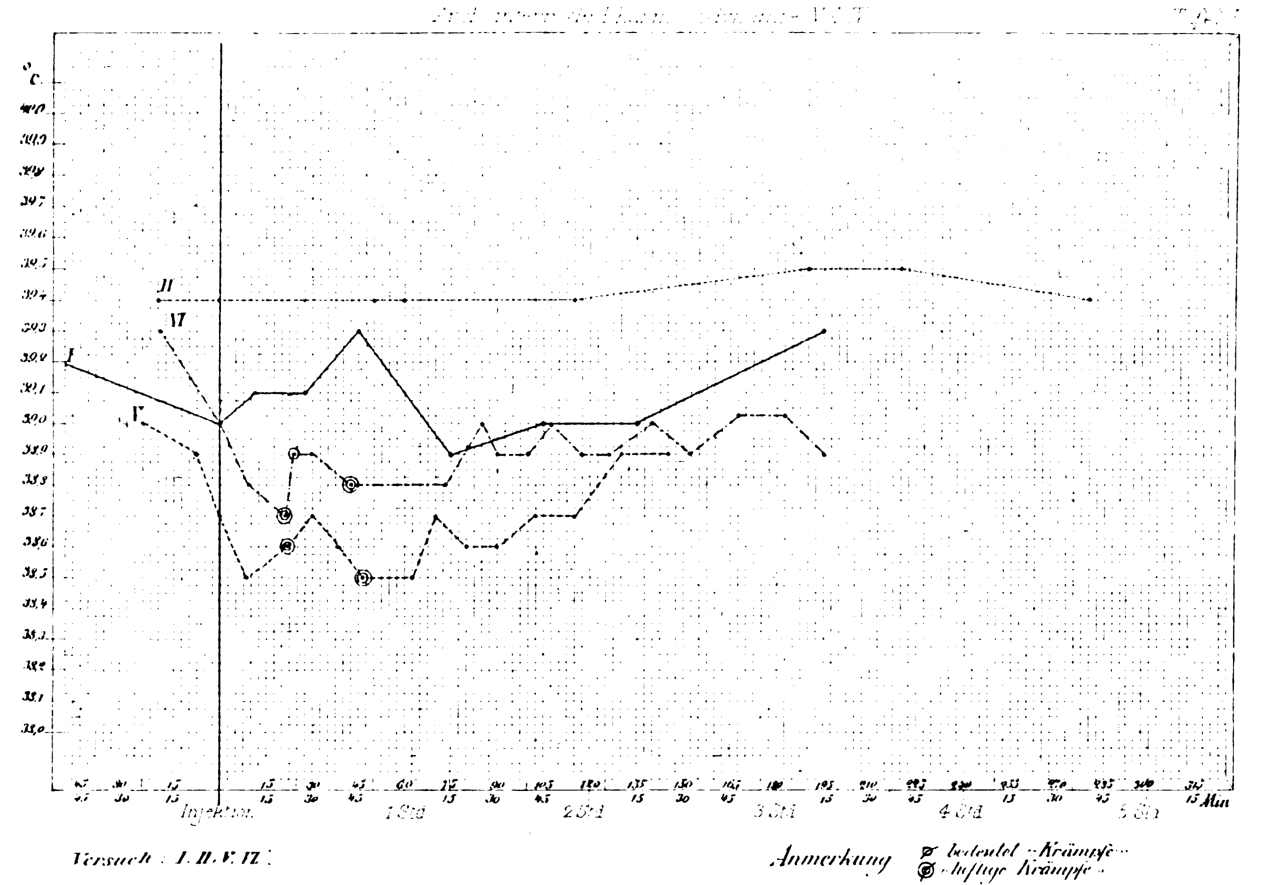
Es ist hier der Ort, an eine alte, im Jahr 1855 von GEORGE HARLEY (1) (damals in Heidelberg) ausgeführte Untersuchung, zu erinnern. — Dieser Autor schüttelte frisch gewonnenes Kalbsblut zur möglichst völlstandigen

(1) G. HARLEY : *On the physiological action of strychnin.* The lancet, 1855. Nr XXIII and XXIV, vol. I, p. 619. 647.

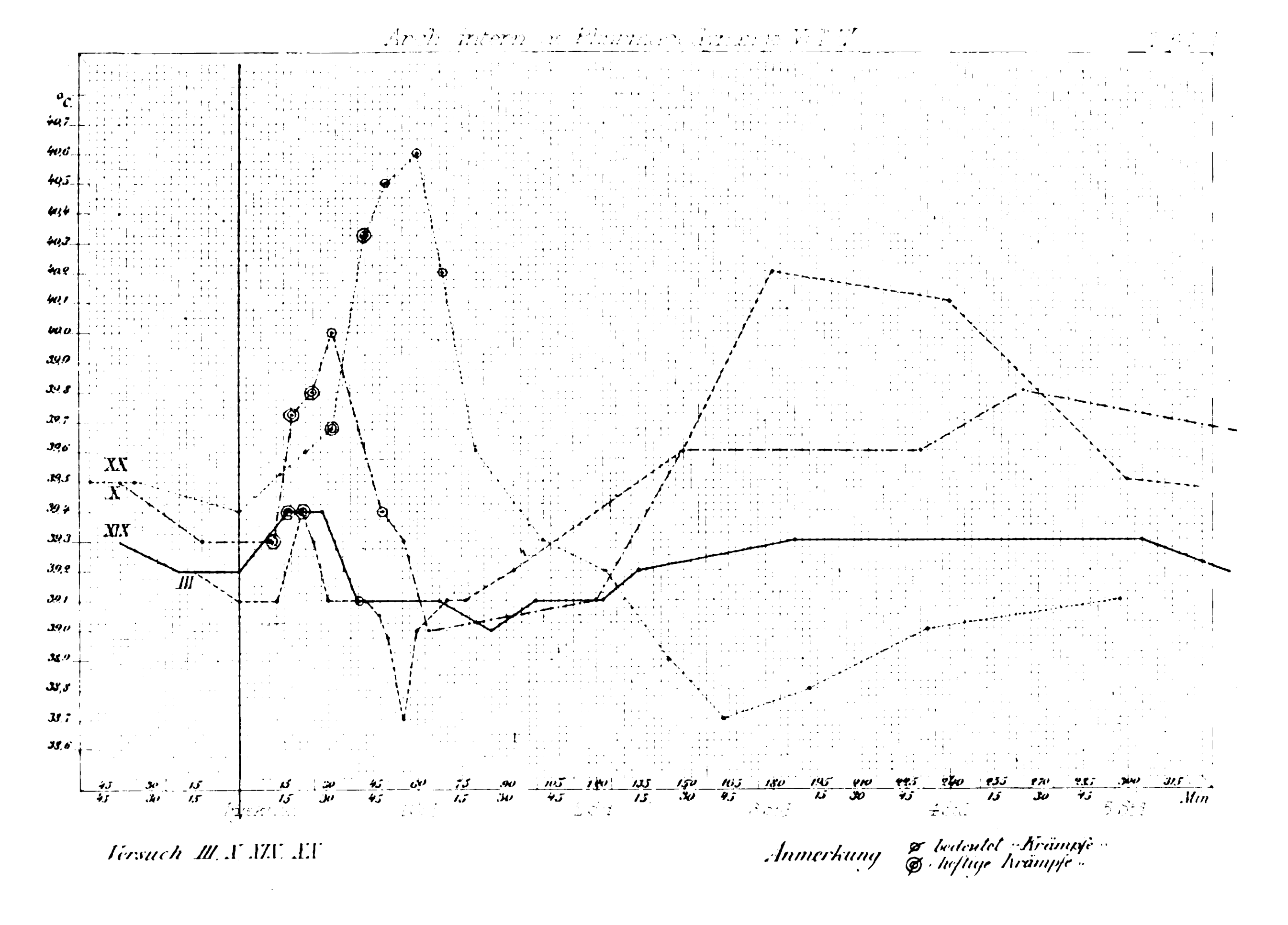
Arterialisation eine Zeit lang mit Luft, versetzte dann die eine Hälfte mit Strychnin und brachte beide Portionen in graduierte Gefässe, die nur halb mit Blut gefüllt wurden, sodass sich noch eben soviel Volumtheile Luft darin befanden. Die fest verschlossenen Gefässe wurden nun wiederholt heftig geschüttelt und nach 24 Stunden die Luft in ihnen gasanalytisch untersucht. Die Analysen ergaben, dass in dem Gefäss mit normalem Blute die Luft aus 11,33 % O, 5,96 % $CO_2$ und 82,71 % N bestand, während die mit dem Strychninblute geschüttelte Luft 17,82 % O, 2,73 % $CO_2$ und 79,45 % N aufwies. Es waren also aus der Luft von dem normalen Blute 9,63 % O aufgenommen und an sie 5,96 % $CO_2$ abgegeben worden, während von dem Strychninblute unter denselben Verhältnissen nur 3,14 % O aufgenommen und nur 2,73 % $CO_2$ abgegeben waren. — Dasselbe konnte HARLEY für Brucin nachweisen. — Hieraus schliesst HARLEY, dass Strychnin (und ebenso Brucin) *die Eigenschaft des Blutes, O aufzunehmen, ausserordentlich verringere.*

Vergleicht man diesen Befund mit dem Resultat meines Versuches, so gewinnt wohl die oben ausgesprochene Vermuthung, dass Strychnin eine Veränderung des *Blutfarbstoffes* in besagtem Sinne bewirke, noch mehr an Wahrscheinlichkeit. Allerdings ist es nicht möglich gewesen, durch spektroskopische oder andere Untersuchungen weder in dem Blute strychninvergifteter Thiere, noch in mit Strychninlösung versetztem Blute eine derartige Veränderung wirklich nachzuweisen.

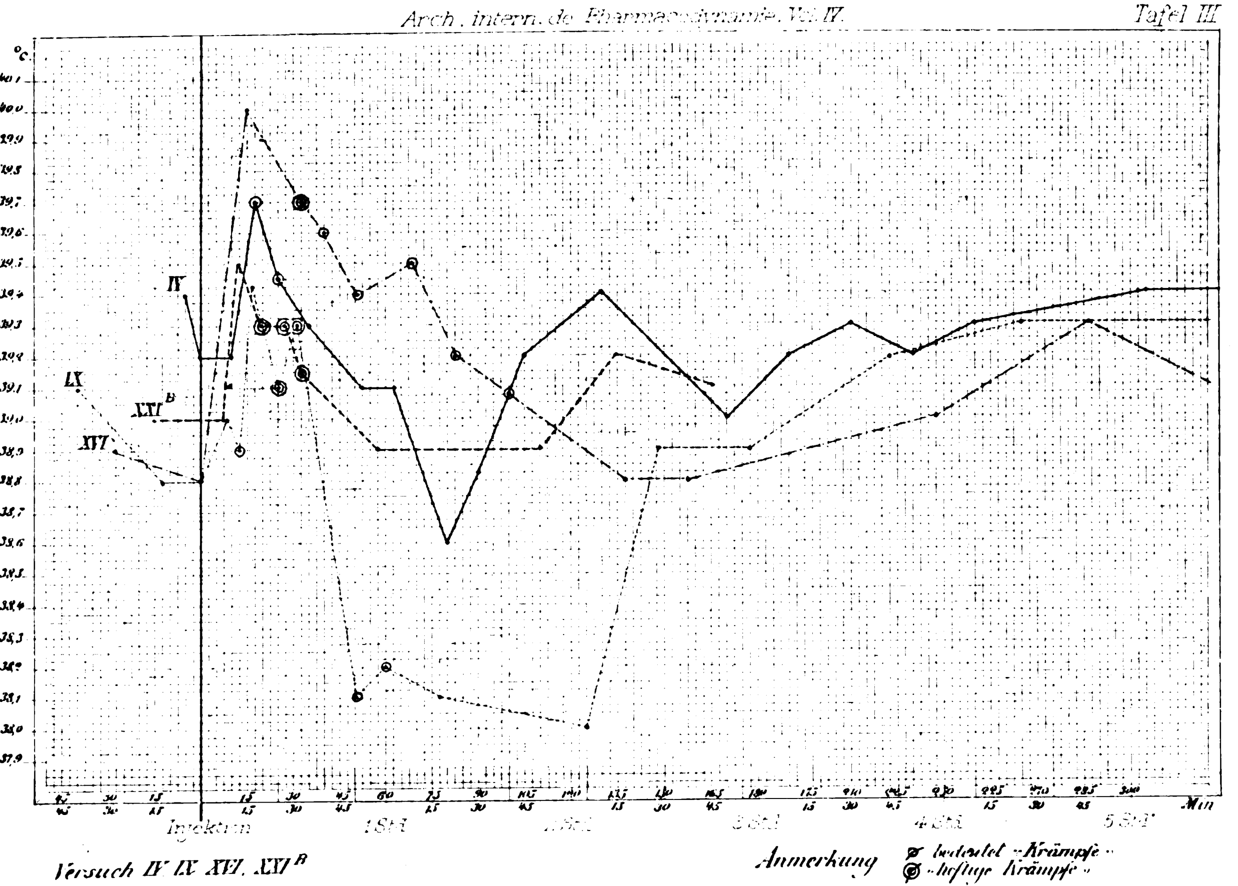
*Breslau, 20 März 1898.*


°C.
40,0
39,9
39,8
39,7
39,6
39,5
39,4
39,3
39,2
39,1
39,0
38,9
38,8
38,7
38,6
38,5
38,4
38,3
38,2
38,1
38,0
I
II
V
VI
45 30 15 15 30 45 60 75 90 105 120 135 150 165 180 195 210 225 240 255 270 285 300 315 Min
Injektion
1 Std
2 Std
3 Std
4 Std
5 Std
Versuch: I. II. V. VI.
Anmerkung
bedeutet Krämpfe
heftige Krämpfe

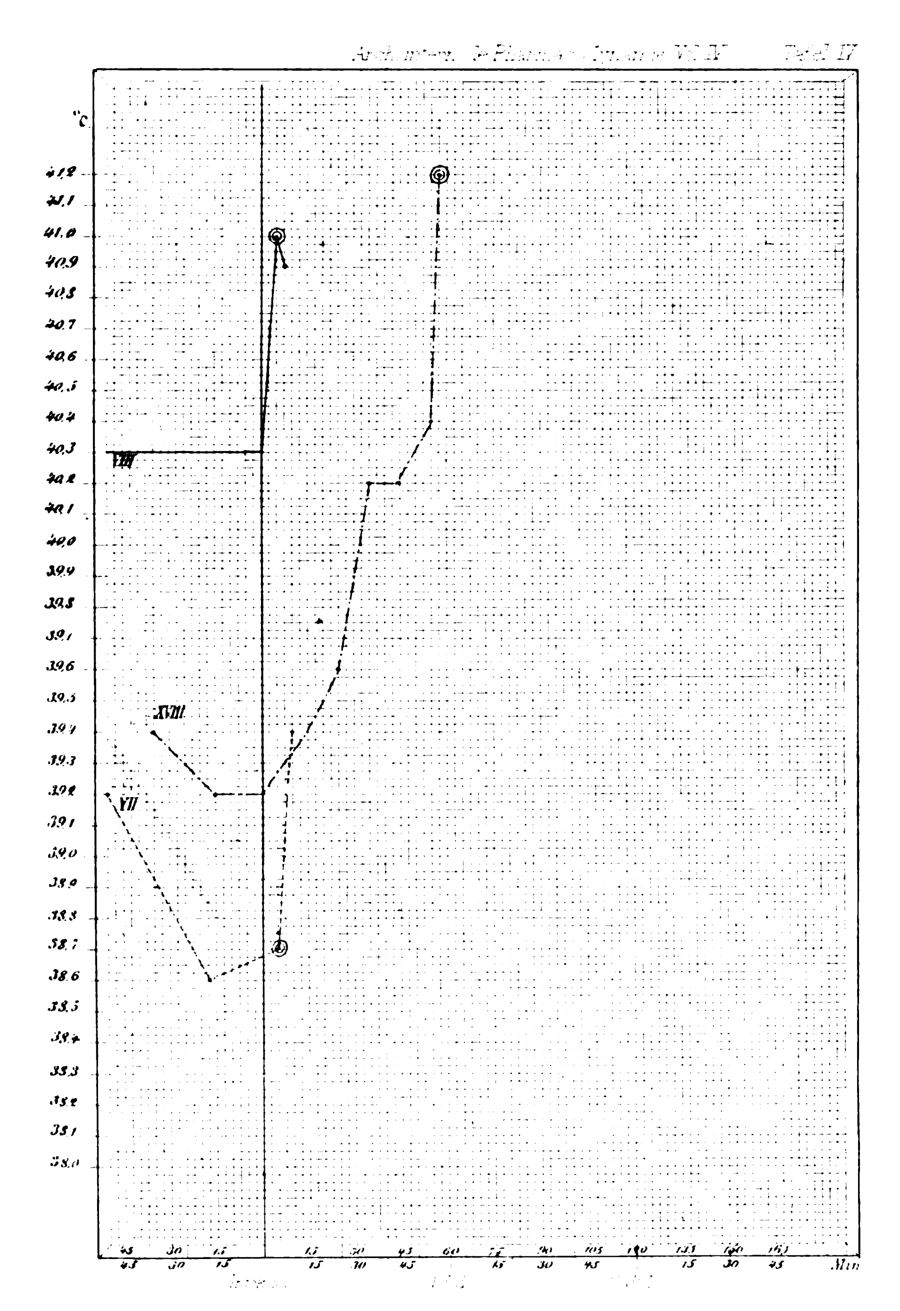



°C
40,7
40,6
40,5
40,4
40,3
40,2
40,1
40,0
39,9
39,8
39,7
39,6
39,5
39,4
39,3
39,2
39,1
39,0
38,9
38,8
38,7
38,6
XX
X
XIX
III
Min
Versuch III. X. XIX. XX.
Anmerkung ⊘ bedeutet „Krämpfe“
◎ „heftige Krämpfe“




°C
40,1
40,0
39,9
39,8
39,7
39,6
39,5
39,4
39,3
39,2
39,1
39,0
38,9
38,8
38,7
38,6
38,5
38,4
38,3
38,2
38,1
38,0
37,9
IV
IX
XVI
XVI B
Injektion
1 Std
2 Std
3 Std
4 Std
5 Std
Min
Versuch IV. IX. XVI. XVI B
Anmerkung ⊙ bedeutet „Krämpfe"
◎ „heftige Krämpfe"






*Versuch: VII. VIII. XVIII. Anmerkung ⊛ bedeutet heftiger Krampfanfall*



# 15. Toxicité des mononitriles gras et aromatiques et action antitoxique de l'hyposulfite de soude vis à vis de ces mononitriles

PAR

R. VERBRUGGE.

Dans un travail récent qui a vivement intéressé les expérimentateurs et les cliniciens, J. F. HEYMANS et P. MASOIN (1) ont étudié l'action physiologique et toxique des dinitriles normaux, ainsi que l'action antitoxique de l'hyposulfite de soude vis à vis de ces poisons. Sur le conseil, et sous la direction de M. le professeur HEYMANS, nous avons, à notre tour, déterminé l'action toxique de plusieurs mononitriles de la série grasse et de la série aromatique, ainsi que le pouvoir antitoxique de l'hyposulfite de soude vis à vis de ces mêmes composés.

Les nitriles que nous avons pu nous procurer dans le commerce (2) — car les chimistes en ont préparé plusieurs autres, — sont les suivants :

A. Mononitriles non oxygénés de la série grasse :

Acétonitrile.
Propionitrile.
Butyronitrile.
Isobutyronitrile.
Isovaléronitrile.
Isocapronitrile.

(1) J. F. HEYMANS et P. MASOIN : *Etude physiologique sur les dinitriles normaux*. Archives de Pharmacodynamie, 1896, vol. III, fasc. 1 et 2, p. 77.

(2) Tous ces produits nous ont été fournis par la maison KAHLBAUM (Schlesische-strasse, Berlin), à l'exception du benzonitrile, qui provenait de MERCK à Darmstadt.

B. Mononitriles oxygénés de la série grasse :

Lactonitrile.

Acide cyanacétique et son éther, le cyanacétate d'éthyle.

C. Mononitriles de la série aromatique :

Benzonitrile.

Benzylnitrile.

Tolunitrile ortho.

Tolunitrile para.

Amygdalonitrile.

Naphtonitrile α.

Naphtonitrile β.

Résumons d'abord les propriétés de ces nitriles, pour autant qu'elles nous intéressent ici (1) :

1. Acétonitrile, $CH_3$-CN, poids moléculaire 41, liquide incolore, d'une odeur éthérée, non désagréable, densité 0,8052 à 0°, point d'ébullition 82°C.

2. Propionitrile, $CH_3$-$CH_2$-CN, poids moléculaire 55, liquide incolore, d'une odeur pénétrante, densité 0,801 à 0°, point d'ébullition 98°C.

3. Butyronitrile, $CH_3$-$(CH_2)_2$-CN, poids moléculaire 69, liquide incolore, possédant une odeur de beurre ranci, densité 0,795 à 12°5, point d'ébullition 11°5.

4. Isobutyronitrile, $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{CH_3}>$CH-CN, poids moléculaire 69, liquide incolore, odeur pénétrante, moins désagréable que la précédente, densité 0,77, point d'ébullition 107-108°C.

5. Isovaléronitrile, $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{CH_3}>$CH-$CH_2$-CN, poids moléculaire 83, liquide incolore, répandant une odeur éthérée désagréable, densité 0,8069 à 0°, point d'ébullition 126-128°.

6. Isocapronitrile, $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{CH_3}>$CH-$(CH_2)_2$-CN, poids moléculaire 97, liquide incolore, d'une odeur repoussante, densité 0,8061 à 20°, point d'ébullition 154°.

7. Lactonitrile, $CH_3$-CH(OH)-CN, poids moléculaire 71, liquide incolore, d'une odeur très faible, densité 1, point d'ébullition 182-184°.

8. Acide cyanacétique, CN-$CH_2$-COOH, poids moléculaire 85, cristaux blancs très hygroscopiques, inodores, point de fusion 55°.

(1) Les dénominations adoptées par nous sont celles de BEILSTEIN dans *Handbuch der organischen Chemie*, 3. Auflage, S. 1454 où nous avons également puisé la plupart des indications ci-dessus.

9. Cyanacétate d'éthyle, $CN\text{-}CH_2\text{-}CO_2C_2H_5$, poids moléculaire 113, liquide incolore, odeur légèrement acétique, densité 1,0664, point d'ébullition 207°.

10. Benzonitrile, $C_6H_5\text{-}CN$, poids moléculaire 103, liquide incolore, odeur d'amandes amères, densité 1,023 à 0°, point d'ébullition 190,7°.

11. Benzylnitrile, $C_6H_5\text{-}CH_2\text{-}CN$, poids moléculaire 117, liquide incolore, très faiblement odorant, densité 1,01 à 8°, point d'ébullition 231,7°.

12. Tolunitrile ortho, $C_6H_4 < {CH_3 \atop CN}$, poids moléculaire 117, liquide incolore, odeur désagréable, densité 1,078.

13. Amygdalonitrile, $C_6H_5\text{-}CH(OH)\text{-}CN$, poids moléculaire 133, liquide huileux, couleur jaunâtre, faiblement odorant, densité 1,124.

Parmi les auteurs qui, à notre connaissance, ont abordé l'étude toxique de l'un ou de l'autre de ces nitriles, GIACOSA(1) et LANG(2) méritent seuls d'être mentionnés; encore, n'avons-nous pas pu utiliser leurs données sur la toxicité. D'autre part, le pouvoir antitoxique de l'hyposulfite de soude vis-à-vis de ces nitriles n'a encore été examiné par personne.

Le but principal de nos recherches a été :

1° De fixer la dose mortelle de chacune de ces substances; accessoirement, nous avons noté les symptômes de l'intoxication.

2° De déterminer si l'hyposulfite possédait une action antitoxique quelconque vis-à-vis de ces nitriles, et jusqu'à quel degré.

Les expériences rapportées ci-dessous ont porté 1° sur la grenouille (grenouille rousse, rana temporaria)(3), 2° sur le lapin.

Les divers nitriles ont été administrés en injection hypodermique à la région dorsale(4).

(1) PIETRO GIACOSA : *Sui nitrili aromatici e grassi nell' organismo.* Revista di Chimica Medica e Farmaceutica, Fascicolo 1 & 2, febbraio 1884. Annali di Chimica, vol. 1, della Serie IV, 1885; id. vol. 2, della Serie IV, 1885.

(2) LANG : *Ueber die Umwandlung des Acetonitrils und seiner Homologen im Thierkörper.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXXIV, S. 247.

(3) Les expériences instituées chez la grenouille verte (rana esculenta) démontrent qu'en général l'action toxique des mononitriles est légèrement plus élevée chez cette dernière espèce.

(4) Nous avons expressément évité la voie stomacale parce qu'elle ne donne que des résultats incertains au point de vue du pouvoir toxique, par suite de la variabilité dans l'absorption. La voie intraveineuse était contre-indiquée pour plusieurs raisons : l'injection d'une solution dans l'huile est dangereuse; divers nitriles sont doués d'une action locale; enfin, la rapidité de l'intoxication ne permet pas d'étudier aussi bien sa marche, ainsi que le pouvoir antitoxique de l'hyposulfite.

Chez la grenouille, les doses dépassant 6—7 vingtièmes de c.c. furent injectées en introduisant l'aiguille au niveau du mollet et la faisant remonter jusqu'au niveau de la cuisse, puis une ligature était jetée sur le creux du jarret. Chez les lapins, nous avons parfois injecté l'hyposulfite de soude dans la veine marginale de l'oreille. Les produits furent administrés comme tels, ou, s'ils étaient très toxiques, en dilution dans de l'huile d'olive; les nitriles solides étaient donnés en solution dans l'eau ou en suspension dans l'huile d'olive. L'hyposulfite fut employé, chez la grenouille, en solution normale (158 °/₀₀), chez le lapin, en solution normale double (316 °/₀₀).

Donnons d'abord dans des tableaux les expériences principales qui précisent la toxicité pour chacun des nitriles, joignant dans la colonne des observations les symptômes principaux de l'intoxication.

## *PREMIÈRE PARTIE.*

### Détermination des doses mortelles.

#### *A.* GRENOUILLE.

TABLEAU I. *Acétonitrile,* $CH_3$-CN. Densité 0,805.

| N° | Poids en grammes | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 26 | 0,20 | 161 | 0,0076 | 6,1 | — | Mouvements respiratoires rapidement irréguliers; après 15' parfois nuls, parfois ils restent rapides et superficiels. Après 20—30' parésie et même paralysie pendant 20—40'. |
| 2 | 27 | 0,25 | 201 | 0,0092 | 7,4 | — | |
| 3 | 24 | 0,25 | 201 | 0,0104 | 8,3 | — | |
| 4 | 19 | 0,20 | 161 | 0,0105 | 8,4 | — | |
| 5 | 27 | 0,30 | 241 | 0,0111 | 8,9 | — | Respiration irrégulière; après 10' la paralysie débute dans les membres postérieurs; elle est générale après 10—20'; contractions fibrillaires dans les muscles pendant la paralysie. Respiration nulle par moments. Réflexes passagèrement abolis. Paralysie disparue après 1—1 1/2 heure. |
| 6 | 22 | 0,25 | 201 | 0,0113 | 9,1 | † | Après 12 h., paralysie. |
| 7 | 26 | 0,30 | 241 | 0,0115 | 9,2 | † | Après 6 – 12 h., paralysie. |
| 8 | 26 | 0,30 | 241 | 0,0129 | 10,3 | † | |
| 9 | 19 | 0,25 | 201 | 0,0131 | 10,5 | † | Après 2' déjà, troubles moteurs et ralentissement progressif de la respiration. Après 8—10' contractions fibrillaires, mort en paralysie et convulsions. |

Dose mortelle : environ 9 milligr. par gramme d'animal.

Des doses notablement inférieures à la dose mortelle, en moyenne jusque dix fois moins, déterminent encore des phénomènes d'intoxication, spécialement des troubles respiratoires.

La même remarque s'applique aux nitriles suivants.

## TABLEAU II. *Propionitrile* $CH_3$-CH-CN. Densité 0,801.

| No | Poids en grammes | Quantité injectée par animal en c.c. | Quantité injectée par animal en mgr. | Quantité injectée par gramme en c.c. | Quantité injectée par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 28 | 0,20 | 160 | 0,0076 | 5,7 | — | Après 5—10′ respiration irrégulière et parésie, même paralysie ; ensuite contractions fibrillaires dans les membres. Après 12—16 h., les troubles moteurs ont disparu. |
| 2 | 31 | 0,25 | 200 | 0,0080 | 6,9 | — | |
| 3 | 23 | 0,20 | 160 | 0,0087 | 6,9 | — | |
| 4 | 25 | 0,25 | 200 | 0,010 | 8,0 | † | Après 2—5′ respiration irrégulière; parésie et tremblements pendant les 2—3 premières heures. Ces doses déterminent d'abord des symptômes aigus, qui s'amendent en général après 6—12 h. mais sans disparaitre complètement. |
| 5 | 35 | 0,35 | 280 | 0,010 | 8,0 | † | Après 6 jours. |
| 6 | 15 | 0,15 | 120 | 0,010 | 8 0 | † | Après 2 semaines. |
| 7 | 27 | 0,30 | 240 | 0,011 | 8,9 | † | Après 4 jours. |
| 8 | 27 | 0,30 | 240 | 0,011 | 8,9 | † | Après 1 jour. |
| 9 | 37 | 0,55 | 480 | 0,013 | 10,5 | † | Respiration irrégulière et parésie après 2—3′. Mort après une heure. |

Dose mortelle : 8 mgr. par gramme d'animal.

## TABLEAU III. *Butyronitrile normal* $CH_3$-$(CH_2)_2$-CN. Densité 0,795.

| No | Poids en grammes | Quantité injectée par animal en c.c. | Quantité injectée par animal en mgr. | Quantité injectée par gramme en c.c. | Quantité injectée par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 25 | 0,05 | 39,75 | 0,0020 | 1,3 | — | Respiration déjà irrégulière après 2—3′ puis respiration tantôt rapide et superficielle, tantôt nulle. Après 15—20′ paralysie complète; parfois contractions fibrillaires. Retour vers l'état normal après 2—4 h. |
| 2 | 19 | 0,05 | 39,75 | 0,0026 | 2,0 | — | Les symptômes respiratoires et neuromusculaires sont semblables à ceux déterminés par les deux nitriles précédents; tout au plus apparaissent-ils d'une manière relativemt plus rapide. La mort survient dans la paralysie, au cours de laquelle se produisent également des contractions fibrillaires et des accès tétaniques. |
| 3 | 17 | 0,05 | 39,75 | 0,0029 | 2,3 | — | |
| 4 | 14 | 0,05 | 39,75 | 0,0035 | 2,8 | — | |
| 5 | 28 | 0,10 | 79,50 | 0,0035 | 2,8 | — | |
| 6 | 28 | 0,10 | 79,50 | 0,0035 | 2,8 | — | |
| 7 | 25 | 0,10 | 79,50 | 0,0040 | 3,1 | † | Après 1 jour environ, en paralysie. |
| 8 | 24 | 0,10 | 79,50 | 0,0042 | 3,3 | † | Après 12—18 heures, en paralysie. |
| 9 | 24 | 0,10 | 79,50 | 0,0042 | 3,3 | † | Après 6—12 heures envir., en paralysie. |
| 10 | 30 | 0,20 | 159,0 | 0,0066 | 5,2 | † | Après 15′ respiration très faible et superficielle ; contractions fibrillaires. Mort après 1 1/2 h. |
| 11 | 17 | 0,15 | 119,25 | 0,0088 | 7,0 | † | Après une heure. |

La dose mortelle est donc d'environ 3,1 milligr. par gramme d'animal. La toxicité du butyronitrile normal comparée à celle du propionitrile est donc considérablement plus élevée.

TABLEAU IV. *Isobutyronitrile* $\frac{CH_3}{CH_3}$ > CH-CN. Densité 0,77.

| No | Poids en grammes | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 18 | 0,10 | 77,16 | 0,0055 | 4,3 | — | Après 5—10' resp. superf. et rapide, nulle par moments ; après 10' paralysie passagère. Tremblements fibrillaires dans les muscles des membres et du thorax. Le lendemain, respir. encore un peu irrég. ; motilité diminuée. |
| 2 | 18 | 0,10 | 77,16 | 0,0055 | 4,3 | — | |
| 3 | 16 | 0,10 | 77,16 | 0,0062 | 4,8 | — | Resp. irrégulière et paralysie après 5' environ ; durée : un jour environ. |
| 4 | 24 | 0,15 | 115,74 | 0,0063 | 4,8 | † | Mort en paralysie. |
| 5 | 15 | 0,10 | 77,16 | 0,0070 | 5,1 | † | Après 2' forte parésie ; après 10' paralysie et arrêt de la respiration ; contractions fibrillaires. Mort en paralysie. |
| 6 | 20 | 0,15 | 115,74 | 0,0075 | 5,4 | † | |
| 7 | 19 | 0,15 | 115,74 | 0,0079 | 6,1 | † | Très rapidement resp. irrégul. et paralysie (après 6—7') ; mort en paralysie. |
| 8 | 22 | 0,20 | 154,32 | 0,0090 | 7,0 | † | |

Dose mortelle : environ 5 mgr. par gramme d'animal.

La toxicité des deux butyronitriles est donc notablement supérieure à celle des nitriles plus inférieurs. Les mononitriles se comportent donc de la même manière que les alcools (1), et inversement aux dinitriles (2).

TABLEAU V. *Isovaléronitrile* $\frac{CH_3}{CH_3}$ > CH-$CH_2$-CN. Densité 0,8069.

| No | Poids en grammes | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 23 | 0,10 | 80,69 | 0,0043 | 3,5 | — | Après 15', respiration nulle et paralysie. |
| 2 | 11 | 0,05 | 40,34 | 0,0045 | 3,7 | — | Le lendemain, respiration encore irrégulière et parésie marquée. |
| 3 | 11 | 0,05 | 40,34 | 0,0045 | 3,7 | — | |
| 4 | 21 | 0.10 | 80,69 | 0,0047 | 3,8 | — | Après 10', paralysie, respiration presque nulle. Après 2 h. la seule manifestation vitale est le choc cardiaque. Après 4 h. respiration revenue, contractions fibrillaires. Après 5 h. quelques mouvements reparaissent. |
| 5 | 21 | 0,10 | 80,69 | 0,0047 | 3,8 | † | Après une heure, parait morte ; jours suivants forte intoxication. |
| 6 | 20 | 0,10 | 80,69 | 0,0050 | 4,0 | † | Après 3—4 jours. |
| 7 | 20 | 0,10 | 80,69 | 0,0050 | 4,0 | † | Après 1 1/2 jour. |
| 8 | 29 | 0,15 | 121,03 | 0,0051 | 4,1 | † | Très rapidement respiration nulle et parésie, symptômes qui persistent jusqu'à la mort (1—2 jours). |
| 9 | 19 | 0,10 | 80,69 | 0,0053 | 4,2 | † | Après 2—3 heures. |

Dose mortelle : 4 mgr. par gramme d'animal.

---

(1) DUJARDIN-BEAUMETZ et AUDIGÉ : *Recherches expérimentales sur la puissance toxique des alcools*. Paris, 1879.

(2) HEYMANS et P. MASOIN : loc. cit.

TABLEAU VI. *Isocapronitrile* $\frac{CH_3}{CH_3}>CH\text{-}(CH_2)_2\text{-}CN$. Densité 0,806.

| N° | Poids en grammes | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 22 | 0,03 | 24,18 | 0,0013 | 1,1 | — | Après 2 h., l'animal est paralysé, respiration nulle; battements cardiaques très faibles; revient assez rapidement à l'état normal. |
| 2 | 22 | 0,03 | 28,21 | 0,0013 | 1,3 | — | |
| 3 | 30 | 0,05 | 40,30 | 0,0017 | 1,3 | — | Après 1/2 h., respiration très faible, paralysie, contract. fibrillaires (membres et thorax). Après 1 1/2 h., parfois accès tétaniques, la respiration revient lentement. Lendemain : encore légère paresse et irrégularité de la respiration. |
| 4 | 28 | 0,05 | 40,30 | 0,0018 | 1 4 | — | Id. |
| 5 | 11 | 0,02 | 20,15 | 0,0018 | 1,4 | — | Id. |
| 6 | 22 | 0,04 | 32,24 | 0,0018 | 1,5 | — | Id. |
| 7 | 27 | 0,05 | 40,30 | 0,0018 | 1,5 | — | Id. |
| 8 | 20 | 0,04 | 32,24 | 0,0020 | 1,6 | † | Après 10', paralysie et respiration nulle ou très superficielle; légères contractions fibrillaires. Mort après un jour. |
| 9 | 24 | 0,05 | 40,30 | 0,0020 | 1,6 | † | Après un demi jour. |
| 10 | 30 | 0,10 | 80,60 | 0,0033 | 2,7 | † | Respiration irrégulière et ralentie; contractions fibrillaires par accès, et de plus en plus espacées; mort en paralysie après 1 heure. |

Dose mortelle : 1,6 mgr. par gramme d'animal.

TABLEAU VII. *Lactonitrile* $CH_3\text{-}CH(OH)\text{-}CN$. Densité 1.

| N° | Poids en grammes | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 21 | 0,05 | 5,00 | 0,0023 | 0,2 | — | Après 4' resp. irrégul. parfois très superficielle; légère paresse. Lendemain : resp. nulle, paralysie, rien que le choc cardiaque. Après 2 jours la respir. revient, très irrégul., forte parésie. Cet état dure 3—4 semaines. Parfois la mort survient pour ces doses, et après un temps variant de 1 jour à 2 semaines; (par ex. : le n° 3, mort après un jour). |
| 2 | 21 | 0,05 | 5,00 | 0,0023 | 0,2 | — | |
| 3 | 21 | 0,05 | 5,00 | 0,0023 | 0,2 | † | |
| 4 | 20 | 0,05 | 5,00 | 0,0025 | 0,2 | — | |
| 5 | 19 | 0,05 | 5,00 | 0,0026 | 0,2 | — | |
| 6 | 18 | 0,06 | 6,00 | 0,0033 | 0,3 | † | Mort en paralysie, survenue la nuit. |
| 7 | 16 | 0,06 | 6,00 | 0,0037 | 0,4 | † | Après 1 jour. |
| 8 | 24 | 0,10 | 10,00 | 0,0041 | 0,4 | † | Resp. rapidement irrég., nulle ou superficielle ou lente et profonde; parésie; paralysie après une heure. Mort après 2 heures. |
| 9 | 39 | 0,5 | 50,00 | 0,013 | 1,3 | † | Resp. irrégul., parésie croissante; paralysie. Mort après 2 heures. |
| 10 | 24 | 0,5 | 50,00 | 0,02 | 2,0 | † | Après 13' resp. nulle et parésie, paralysie après une heure environ. Mort après 1 1/2 h. |

Dose mortelle : 0,3 mgr. par gramme d'animal. Des troubles respiratoires et un léger degré de parésie se manifestent déjà pour des doses se chiffrant par millièmes de mgr.

TABLEAU VIII. *Acide cyanacétique* $CN\text{-}CH_2\text{-}COOH$.

| No | Poids en grammes | QUANTITÉ INJECTÉE par animal | QUANTITÉ INJECTÉE par gramme | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | | mgr. | mgr. | | |
| 1 | 18 | 24,0 | 1,3 | † | Mort par suite des lésions causées à l'endroit d'injection : peau largement enlevée aux 3/4 inférieurs du dos. |
| 2 | 19 | 30,0 | 1,6 | † | Après 10—12', respiration irrégulière et légèrement ralentie ; parésie pendant 2 jours. Morte à la suite des lésions locales. |
| 3 | 24 | 40,0 | 1,7 | — | Intoxication pendant 1—2 jours. |
| 4 | 18 | 32,0 | 1,8 | † | Mort en paralysie après 1 jour. |
| 5 | 18 | 32,0 | 1,8 | — | Intoxication pendant 1—2 jours. |
| 6 | 17 | 32,0 | 1,9 | † | Après 3—5', respiration ralentie et un peu irrégul., la motilité reste pendant quelques minutes intacte, |
| 7 | 25 | 60,0 | 2,4 | † | peut-être même une légère agitation. Parésie après 40—60'. Après 2—4 h., paralysie. Mort après 1—2 h. |
| 8 | 24 | 60,0 | 2,5 | † | |
| 9 | 21 | 60,0 | 2,8 | † | Après 2', respiration irrégulière, ralentie et rapidement nulle ; après 30' la paralysie s'installe, sans tremblement préalable Mort après 1 h. environ. |
| 10 | 25 | 90,0 | 3,6 | † | |

Dose mortelle : 2 mgr. par gramme d'animal.

Cette symptomatologie (paralysie sans aucun signe excitomoteur) s'écarte très nettement de celle que nous avons constatée pour tous les nitriles précédents.

TABLEAU IX. *Cyanacétate d'éthyle* $CN\text{-}CH_2\text{-}CO_2\text{-}C_2H_5$. Densité 1,06.

| No | Poids en grammes | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 43 | 0,05 | 50 | 0,0012 | 1,2 | — | Après 2—10' irrég. respir. précédée d'une légère accélération ; après 10—15' ralentissement. Après 5—10' parésie ; durée : 12 - 24 heures. |
| 2 | 20 | 0,05 | 50 | 0,0025 | 2,5 | — | |
| 3 | 19 | 0,05 | 50 | 0,0026 | 2,6 | — | |
| 4 | 17 | 0,05 | 50 | 0,0029 | 2,9 | — | |
| 5 | 24 | 0,10 | 100 | 0,0042 | 4,2 | † | Après 5' resp. irrég. ; léger tremblement ; après 40' paralysie. |
| 6 | 34 | 0,15 | 150 | 0,0044 | 4,4 | † | Mort en paralysie après 1 h. |
| 7 | 20 | 0,10 | 100 | 0,0050 | 5,0 | † | » » » » 2 » |
| 8 | 24 | 0,15 | 150 | 0,0062 | 6,2 | † | » » » » 3 » |
| 9 | 15 | 0,10 | 100 | 0,0076 | 7,6 | † | » » » » 3 » |
| 10 | 21 | 0,20 | 200 | 0,0095 | 9,5 | † | » » » » 1 » |

Dose mortelle : 4 mgr. par gramme d'animal.

## TABLEAU X. *Benzonitrile* $C_6H_5$-CN. Densité 1,02.

| No | Poids en grammes | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | Observations |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 45 | 0,05 | 50 | 0,0011 | 1,1 | — | Après 5—10' resp. ralentie et irrég., parésie, mouvements irrég. et contractions fibrillaires très nettes. Durée de la parésie : 12—18 heures. |
| 2 | 36 | 0,05 | 50 | 0,0013 | 1,3 | — | |
| 3 | 35 | 0,05 | 50 | 0,0014 | 1,4 | — | |
| 4 | 34 | 0,05 | 50 | 0,0015 | 1,5 | — | L'intoxication débute comme ci-dessus; après 40' paralysie. Le lendemain : légère parésie. |
| 5 | 33 | 0,05 | 50 | 0,0015 | 1,5 | — | |
| 6 | 32 | 0,05 | 50 | 0,0016 | 1,6 | — | |
| 7 | 30 | 0,05 | 50 | 0,0017 | 1,7 | † | Après 23' resp. irrégul., parésie, après 30—40' paralysie et contractions fibrillaires. Mort après 1—2 heures. |
| 8 | 23 | 0,05 | 50 | 0,0021 | 2,1 | † | |

Dose mortelle : 1,7 mgr. par gramme d'animal.

## TABLEAU XI. *Benzylnitrile* $C_6H_5$-$CH_2$-CN. Densité 1,01.

| No | Poids en grammes | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | Observations |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 23 | 0,02 | 20 | 0,0009 | 0,9 | — | Après 5', respiration irrégulière, tremblements et ensuite contractions fibrillaires. Après 2 h., paralysie complète pour 6—12 h. Ensuite parésie, qui disparaît au bout de 2—3 jours. |
| 2 | 27 | 0,03 | 30 | 0,0011 | 1,1 | † | Mort en paralysie, après 3 jours. |
| 3 | 40 | 0,05 | 50 | 0,0012 | 1,2 | — | Respiration irrégulière, puis arrêtée après 20'; après 30' contractions fibrillaires, paralysie; le lendemain, redevenue normale. |
| 4 | 40 | 0,05 | 50 | 0,0012 | 1,2 | † | En paralysie, après 1 jour. |
| 5 | 23 | 0,03 | 30 | 0,0013 | 1,3 | † | |
| 6 | 19 | 0,02 | 25 | 0,0013 | 1,3 | — | |
| 7 | 23 | 0,03 | 35 | 0,0015 | 1,5 | † | Après 1 jour. |
| 8 | 30 | 0,05 | 50 | 0,0017 | 1,7 | † | Arrêt respiratoire après 10—20'; après 20' environ, paralysie et contractions fibrillaires persistant jusqu'à la mort, mais diminuant insensiblement. Mort après 2—3 h. |
| 9 | 23 | 0,05 | 50 | 0,0022 | 2,2 | † | Après 2—3 h. |
| 10 | 18 | 0,05 | 50 | 0,0028 | 2,8 | † | Après 2—3 h. |

Dose mortelle évaluée à 1,5 mgr. par gramme d'animal.

## TABLEAU XII. *Ortho-tolunitrile* $C_6H_4 < {CH_3 \atop CN}$. Densité 1,078.

| No | Poids en grammes | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 30 | 0,02 | 0,02 | 0,00066 | 0,7 | — | Resp. irrégul., après 1 h. resp. nulle et |
| 2 | 25 | 0,02 | 0,02 | 0,00080 | 0,8 | † | léger tremblement, paralysie. Lendemain : battements cardiaques fortement ralentis. (No 2 succombe, cause?) |
| 3 | 25 | 0,02 | 0,02 | 0,00080 | 0,8 | — | Le 2e jour, battem. card. ralentis, même |
| 4 | 24 | 0,02 | 0,02 | 0,00083 | 0,8 | — | irrégul.; le 3e jour redevenue normale. |
| 5 | 23 | 0,02 | 0,02 | 0,0010 | 0,9 | † | Au bout d'une heure rien que des batt. card. ralentis, à peine visibles. |
| 6 | 19 | 0,02 | 0,02 | 0,0010 | 1,0 | † | Après 1 h., paraît morte ; lendemain : forte intoxic., persistant 2—3 jours. |
| 7 | 18 | 0,02 | 0,02 | 0,0011 | 1,1 | † | Après moins d'un jour. |
| 8 | 18 | 0,02 | 0,02 | 0,0011 | 1,1 | † | Après 30' resp. nulle et paralysie, après 1 h. choc card. à peine visible. |
| 9 | 24 | 0,03 | 0,03 | 0,0012 | 1,2 | † | Après un demi-jour. |
| 10 | 37 | 0,05 | 0,05 | 0,0013 | 1,3 | † | Contractions fibrillaires pas fréquentes, mais nettes. Mort après 2 heures. |

Dose mortelle : 1,0 mgr. par gramme d'animal.

## TABLEAU XIII. *Amygdalonitrile* $C_6H_5$-CH(OH)-CN. Densité 1,1.

| No | Poids en grammes | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en mgr. | par gramme en c.c. | par gramme en mgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 19 | 0,001 | 1,1 | 0,00052 | 0,1 | — | Respiration rapidement très irrégulière ; |
| 2 | 15 | 0,001 | 1,1 | 0,00066 | 0,1 | — | après 30' souvent nulle ou très super- |
| 3 | 17 | 0,005 | 5,5 | 0,0027 | 0,3 | — | ficielle, parésie après 15—30' durant 12-24 heures. |
| 4 | 17 | 0,010 | 1,1 | 0,0058 | 0,6 | † | Après 2—3 heures. |
| 5 | 22 | 0,020 | 16,5 | 0,0090 | 1,1 | † | Respiration irrégulière après 2—5' ; nulle après 30—60'. |
| 6 | 22 | 0,020 | 22,0 | 0,0090 | 1,0 | † | Après 5—10' parésie ; paralysie après |
| 7 | 18 | 0,020 | 22,0 | 0,0011 | 1,2 | † | 1 h. environ, celle-ci dure jusqu'à la mort (après 2—3 h. environ). |
| 8 | 17 | 0,020 | 22,0 | 0,0012 | 1,3 | † | Après 1—2 h. |
| 9 | 14 | 0,020 | 22,0 | 0,0015 | 1,6 | † | Après 1—1/2 h. |
| 10 | 25 | 0,040 | 44,0 | 0,0016 | 1,8 | † | Id. |

Dose mortelle : 0,6 mgr. par gramme d'animal.

## *B.* Lapin.

### TABLEAU I. *Acétonitrile* $CH_3$-CN. Densité 0,805.

| N° | Poids en kilogr. | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,143 | 0,13 | 0,104 | 0,113 | 0,0904 | — 2 h.(1) | Respiration irrégulière. l'animal reste immobile, garde l'attitude normale. |
| 2 | 1,250 | 0,15 | 0,120 | 0,120 | 0,096 | — 3 h. | Respiration rapidement troublée, légère parésie, immobilité. |
| 3 | 1,155 | 0,14 | 0,112 | 0,121 | 0,104 | — 1—2 h. | Respiration rapidement troublée, graduellement ralentie, puis revient graduellement. Immobilité. |
| 4 | 1,155 | 0,14 | 0,112 | 0,121 | 0,104 | — 2—3 h. | Parésie et troubles respiratoires. |
| 5 | 0,681 | 0,085 | 0,068 | 0,125 | 0,100 | — 1 jour | Respiration ralentie, un peu irrégul. Lendemain, respiration paraît encore un peu irrégulière. |
| 6 | 2,709 | 0,45 | 0,360 | 0,130 | 0,105 | † 5—10 h. | Respiration rapidement ralentie et irrégulière. La motilité n'est guère troublée pendant les 2—3 premières heures. La paralysie apparaît lentement. |
| 7 | 2,352 | 0,45 | 0,360 | 0,190 | 0,152 | † 4—8 h. | Respiration rapidement irrégulière. La parésie s'installe encore lentement. |
| 8 | 3,072 | 3,50 | 2,800 | 1,140 | 0,912 | † 2 h. | Respiration rapidement irrégul. Après 30′ somnolence, après 1 heure parésie. Convulsions. |

Dose mortelle : 0,130 gr. par kil. d'animal.

### TABLEAU II. *Propionitrile* $CH_3$-$CH_2$-CN. Densité 0,801.

| N° | Poids en kilogr. | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,252 | 0,05 | 0,040 | 0,040 | 0,032 | — 2 h. | Ralentissement et peut-être irrégularité respiratoire. Motilité intacte. |
| 2 | 1,330 | 0,10 | 0,080 | 0,075 | 0,060 | — 2 h. | Ralentissement et légère irrégularité respiratoire. Le plus souvent reste immobile ; léger défaut de motilité. |
| 3 | 0,808 | 0,06 | 0,048 | 0,075 | 0,060 | † 16 h. | Rapidement polypnée et parésie, puis la parésie augmente. Convulsions déjà après une heure. |
| 4 | 1,000 | 0,08 | 0,064 | 0,080 | 0,064 | † 2 h. | Polypnée, parésie, efforts pour se relever et accès tétaniques. La respiration se ralentit de plus en plus. |
| 5 | 0,740 | 0,06 | 0,048 | 0,083 | 0,065 | † 1 h. 40′ | Polypnée, puis dyspnée et irrégularités respiratoires. Après 40′ couché s[r] flanc ; la motilité et la respiration diminuent. |
| 6 | 2,812 | 0,25 | 0,200 | 0,090 | 0,071 | † 1 h. 50′ | Agitation pendant 6′. Polypnée puis dyspnée ; parésie, mouvem. convulsifs. |
| 7 | 1,170 | 0,15 | 0,120 | 0,120 | 0,100 | † 2 h. | Polypnée peu nette irrégulière, ralent. respiratoire. Parésie, tremblement et secousses tétaniques. |

Dose mortelle : 0,065 gr. par kgr. d'animal.

(1) Les heures indiquent la durée de l'intoxication ou de survie.

TABLEAU III. *Butyronitrile* $CH_3$-$(CH_2)_2$-CN. Densité 0,795.

| No | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,290 | 0,01 | 0,008 | 0,0076 | 0,0062 | — 1—2 h. | Légère irrégularité respiratoire. Motilité normale. |
| 2 | 1,378 | 0,015 | 0,0120 | 0,0108 | 0,0087 | — 1 h. | Légère accélération de la respiration. Congestion des vaisseaux auriculaires, de la muqueuse nasale. |
| 3 | 1,172 | 0,015 | 0,0120 | 0,0128 | 0,0102 | † 2 1/2 h. | Respiration d'abord accélérée puis ralentie. Paresse suivie de parésie. |
| 4 | 1,588 | 0,025 | 0,020 | 0,0157 | 0,0127 | † 3 h. | Polypnée, dyspnée, enfin ralentissement de la respiration. Parésie croissante. |
| 5 | 1,393 | 0,035 | 0,028 | 0,025 | 0,0201 | † 1 h. 50' | Ralentissement rapide de la respiration et parésie. Convulsions. |
| 6 | 1,758 | 0,05 | 0,040 | 0,029 | 0,0227 | † 2 h. | Polypnée, puis ralentissement respirat. et parésie croissante. Convulsions. |

Dose mortelle : 0,010 gr. par kgr. d'animal.

TABLEAU IV. *Isobutyronitrile*, $\frac{CH_3}{CH_3}>$CH-CN. Densité 0,77.

| No | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,042 | 0,01 | 0,0077 | 0,0096 | 0,0074 | — 1 h. | Ralentissement et peut-être irrégularité respiratoire. |
| 2 | 2,412 | 0,025 | 0,0192 | 0,010 | 0,0080 | — 1—2 h. | Ralentissement et irrégularité de la respiration. Somnolence. |
| 3 | 0,892 | 0,01 | 0,0077 | 0,011 | 0,0086 | † 20' | Polypnée. Très rapide parésie. La respiration devient superficielle. Légère diarrhée, entérite. |
| 4 | 0,800 | 0,01 | 0,0077 | 0,012 | 0,0096 | † 3 h. | Ralentissement rapide et irrégularité respiratoires. Rapidement parésie et convulsions. |
| 5 | 0,750 | 0,01 | 0,0077 | 0,013 | 0,0102 | † 3—5 h. | Polypnée très passagère. Rapide dyspnée et irrégul. respiratoire. Convuls. |
| 6 | 2,760 | 0,15 | 0,1155 | 0,055 | 0,0418 | † 1 h. | Ralentissement respiratoire. Parésie, paralysie. |
| 7 | 2,090 | 0,20 | 0,1540 | 0,095 | 0,0741 | † 40' | Polypnée, dyspnée, respiration décroissante. |

Dose mortelle : 0,009 gr. par kgr. d'animal.

TABLEAU V. *Isovaléronitrile* $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{CH_3}>CH\text{-}CH_2\text{-}CN$. Densité 0,8069.

| N° | Poids en kilogr. | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,631 | 0,03 | 0,024 | 0,047 | 0,0380 | — 1 j. | Polypnée, légère paresse, abaissement de la température ; mort après 6 jours : coccidiose, diarrhée. |
| 2 | 0,803 | 0,04 | 0,032 | 0,049 | 0,0398 | — 2 j. | Après 1 h. semble mourant, se remet lentem. Lendemain : encore polypnée. |
| 3 | 0,800 | 0,04 | 0,032 | 0,050 | 0,0400 | — 1—2 j. | Polypnée, dyspnée et ralentissement respir., somnolence, parésie, trismus. Ces symptômes cèdent peu à peu. |
| 4 | 1,250 | 0,065 | 0,052 | 0,052 | 0,0432 | — 1 j. | Ralentissement et irrégul. respiratoires, somnolence légère. |
| 5 | 0,645 | 0,035 | 0,028 | 0,055 | 0,0434 | † 3 1/2 h. | Parésie et polypnée, puis ralentissement de la respiration. |
| 6 | 2,363 | 0,20 | 0,16 | 0,084 | 0,0677 | † 2 h. | Polypnée, puis ralentissem. respiratoire. Parésie, puis convulsions répétées. |

Dose mortelle : 0,045 gr. par kgr. d'animal.

TABLEAU VI. *Isocapronitrile* $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{CH_3}>CH\text{-}(CH_2)_2\text{-}CN$. Densité 0,806.

| N° | Poids en kilogr. | Quantité injectée par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,000 | 0,05 | 0,040 | 0,050 | 0,040 | — 2 h. | Respiration irrégul. et ralentie. Légère paresse. |
| 2 | 0,708 | 0,07 | 0,056 | 0,090 | 0,079 | — 4—8 h. | Polypnée, puis ralentissement respirat. croissant. Tremblement généralisé, avec exacerbations. Tétanos. Mort de coccidiose après 2 jours ; diarrhée. |
| 3 | 0,750 | 0,075 | 0,060 | 0,100 | 0,080 | — 2—4 h. | Polypnée, puis respiration irrégulière. Phénomènes d'excitation : tremblem. |
| 4 | 0,808 | 0,085 | 0,068 | 0,105 | 0,082 | — 2—3 h. | Polypnée et respiration irrégulière. Pas d'excitation pendant les 2 heures que nous l'avons observé. |
| 5 | 0,942 | 0,10 | 0,080 | 0,106 | 0,085 | — 1—2 jours | $1^{r}$ jour : polypnée et hyperexcitabilité très légère ; quelques tremblements. $2^{e}$ jour : respiration irrégulière, légère paresse. |
| 6 | 0,940 | 0,105 | 0,084 | 0,111 | 0,089 | † 4—5 h. | Très rapidement (3') tremblement avec exacerbations, trismus, tétanos. |
| 7 | 0,765 | 0,09 | 0,072 | 0,117 | 0,094 | † | Polypnée, puis ralentissement et irrégularité respiratoires. Agitation, tremblement, parésie. |

Dose mortelle : 0,090 gr. par kgr. d'animal.

## TABLEAU VII. *Lactonitrile* $CH_3$-CH(OH)-CN. Densité 1.

| No | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,312 | 0,005 | 0,005 | 0,0038 | 0,0038 | — 2—3 h. | Ralentissement et irrégularité respiratoire, somnolence. |
| 2 | 1,072 | 0,005 | 0,005 | 0,0046 | 0,0046 | — 4—8 h. | Ralentissement respiratoire, parésie, tombe même sur le flanc, tremblements musculaires perceptibles au palper. |
| 3 | 1,018 | 0,005 | 0,005 | 0,0048 | 0,0048 | — 8—12 h. | Sans polypnée, respiration irrégulière fortement ralentie. Tremblements musculaires. Convulsions. |
| 4 | 0,953 | 0,005 | 0,005 | 0,0052 | 0,0052 | † 3 h. 50′ | Tombe rapidement (7′) en convulsions. Respiration rapidement ralentie. Accès de secousses tétaniques. Paralysie. Mort lente. |
| 5 | 1,251 | 0,0075 | 0,0075 | 0,0052 | 0,0052 | † 7′ | Tombe sur le flanc, petits cris, respiration lente, irrégulière, parfois une inspiration profonde. |
| 6 | 0,938 | 0,005 | 0,005 | 0,0053 | 0,0053 | † 24—36 h. | Polypnée et rapidement convulsions et respiration ralentie. Lendemain, encore forte intoxication. Diarrhée. |
| 7 | 1,054 | 0,020 | 0,020 | 0,0180 | 0,0180 | † 35′ | Rapidement couché sur le flanc, respiration ralentie, petits cris. |
| 8 | 1,203 | 0,06 | 0,06 | 0,050 | 0,050 | † 6′ | Après 3′ tombe sur le flanc, petits cris, pas de convulsions. |

Dose mortelle : 0,005 gr. par kgr. d'animal.

Ce corps, par sa forte toxicité, occupe donc une place toute spéciale dans le groupe des nitriles.

## TABLEAU VIII. *Acide Cyanacétique* CN-$CH_2$-COOH.

| No | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE par animal gr. | par kilogr. gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,764 | 0,066 | 0,087 | — 1 h. | Polypnée, parfois légère irrégularité. Pas de lésions locales. |
| 2 | 0,654 | 0,133 | 0,204 | — 2 h. | Respiration irrégulière sans polypnée nette. Mâchonnements, somnolence légère pas de lésions locales. |
| 3 | 0 750 | 0,299 | 0,32 | — 3—4 h. | Respiration irrég. d'abord, légèrement polypneique. Mort le 13e jour; nombreux ulcères dans le flanc. |
| 4 | 1,113 | 0,666 | 0,59 | — 5—10 h. | Sans polypnée, respiration irrégulière, somnolence. Mort après 9 jours; ulcères à l'endroit d'injection. |
| 5 | 1,483 | 1,100 | 0,74 | — 24 h. | Somnolence, légère parésie. Lendemain, intoxication douteuse. Mort après 6 jours; lésions locales. |
| 6 | 1,240 | 1,330 | 1,070 | — 24 h. | Sans polypnée, ralentissement respir. très accentué, somnolence. Mort le 5e jour, lésions locales. |
| 7 | 1,117 | 2,16 | 1,900 | † 40 h. | Ralentissement respiratoire; parésie, abaissement de la température. Lendemain, même état. Mort; lésions locales très légères. |
| 8 | 1,080 | 2,66 | 2,46 | † 8—10 h. | Respiration irrégul., parfois polypnée. Somnolence. Abaissement de la température. |

Dose mortelle : 2 gr. par kgr. d'animal.

*Remarque.* — Étant donnée l'action locale si intense que détermine cette substance, on se trouvait dans des conditions toutes spéciales pour la détermination de sa toxicité : tous les animaux succombent à la suite de perforations et d'ulcérations plus ou moins précoces de la paroi abdominale. On peut cependant dire qu'à partir du nº 7 les animaux meurent par suite de l'intoxication générale, et avant que l'action locale n'ait pu produire son effet.

(L'injection fut faite à l'aide d'une solution composée de 2 parties d'acide pour une partie d'eau.)

TABLEAU IX. *Cyanacétate d'éthyle* $CN\text{-}CH_2\text{-}CO_2\text{-}C_2H_5$. Densité 1,06.

| Nº | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE | | | | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | par animal | | par kilogr. | | | |
| | | en c.c. | en gr. | en c.c. | en gr. | | |
| 1 | 1,173 | 1,40 | 1,40 | 1,13 | 1,13 | — 4—5 h. | Respiration irrégulière; paresse et même légère parésie des membres antérieurs. |
| 2 | 0,923 | 1,15 | 1,15 | 1,24 | 1,24 | — 5 h. | Polypnée, parésie, surtout des membres antér., respiration un peu irrégulière. |
| 3 | 1,240 | 1,65 | 1,65 | 1,33 | 1,33 | — 5 h. | Polypnée, parésie, puis paresse (durée un peu plus longue). |
| 4 | 1,080 | 1,45 | 1,45 | 1,34 | 1,34 | — 5—10 h. | Polypnée, parésie, puis respiration irrégulière et parésie. |
| 5 | 0,885 | 1,15 | 1,15 | 1,41 | 1,41 | † 3 h. | Polypnée, paresse et rapidem. parésie, paralysie. |
| 6 | 0,800 | 1,15 | 1,15 | 1,43 | 1,43 | † 1 h. | Sans polypnée, respiration irrégulière, ralentie de plus en plus. Parésie (1 fois mouvements tétaniques), paralysie. |
| 7 | 1,060 | 2,50 | 2,50 | 2,35 | 2,35 | † 1 h. | Directement ralentissement croissant de la respiration; rapidement paralysie. |

Dose mortelle : 1 gr. 50 par kil. d'animal.

TABLEAU X. *Benzonitrile* $C_6H_5\text{-}CN$. Densité 1,02.

| Nº | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE | | | | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | par animal | | par kilogr. | | | |
| | | en c.c. | en gr. | en c.c. | en gr. | | |
| 1 | 2,443 | 0,40 | 0,40 | 0,164 | 0,164 | — 2 h. | Respiration irrégulière, parésie. |
| 2 | 1,194 | 0,20 | 0,20 | 0,173 | 0,173 | — 3 h. | Respiration irrégulière, parésie très légère. |
| 3 | 1,330 | 0,25 | 0,25 | 0,188 | 0,188 | — 3 h. | Respiration irrégulière et parésie. |
| 4 | 0,970 | 0,20 | 0,20 | 0,206 | 0,206 | † 6—12 h. | Respiration irrégulière, parfois polypnée momentanée. Somnolence, mort en paralysie. |
| 5 | 1,398 | 0,40 | 0,40 | 0,213 | 0,213 | † 4 h. 30′ | Respiration ralentie ; parésie croissante. |
| 6 | 1,132 | 0,30 | 0,30 | 0,260 | 0,260 | † 3 h. | En paralysie. |
| 7 | 1,307 | 0,45 | 0,45 | 0,344 | 0,344 | † 1 1/2 jour | Rapidem. respiration irrégul., paresse. Puis couché sur le flanc, tremblements génér. fréquents ; en cet état jusqu'à la mort. |

| N° | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 8 | 1,413 | 0,80 | 0,80 | 0,560 | 0,560 | † 2 1/2 jrs | Polypnée, parésie et rapidement un état paralytique persistant jusqu'à la mort. |
| 9 | 1,363 | 0,80 | 0,80 | 0,588 | 0,588 | † 16 h. | Respiration irrégulière, parçsse, etc. Mort dans un état paralytique. |

Dose mortelle : 0,200 gr. par kil. d'animal.

TABLEAU XI. *Benzylnitrile* $C_6H_5$-$CH_2$-CN. Densité 1,01.

| N° | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,371 | 0,045 | 0,045 | 0,032 | 0,032 | — 2—3 h. | Respiration irrégulière, rapidement ralentie, paresse. |
| 2 | 1,200 | 0,050 | 0,050 | 0,041 | 0,041 | — 2 h. | Léger ralentissement respiratoire et légère paresse. |
| 3 | 1,442 | 0,065 | 0,065 | 0,045 | 0,045 | — 4 h. | Ralentissement respiratoire ; légère somnolence. Respiration encore un peu irrégulière après un jour. |
| 4 | 1,278 | 0,060 | 0,060 | 0,047 | 0,047 | — 4 h. | Respiration irrégulière et somnolence. |
| 5 | 1,100 | 0,055 | 0,055 | 0,050 | 0,050 | † 1 h. | Légère polypnée, respiration irrégulière, parésie, incoordination. |
| 6 | 1,220 | 0,065 | 0,065 | 0,053 | 0,053 | † 1 h. | Respiration irrégulière, parésie croissante, parfois convulsions. |
| 7 | 1,165 | 0,090 | 0,090 | 0,077 | 0,077 | † 2 h. | Respiration rapidement ralentie et irregulière, paresse. |
| 8 | 1,114 | 0,200 | 0,200 | 0,179 | 0,179 | † 30' | Polypnée, parésie, ralentissement respiratoire. |

Dose mortelle : 0,050 gr. par kgr. d'animal.

TABLEAU XII. *Amygdalonitrile* $C_6H_5$-CH(OH)-CN. Densité 1,1.

| N° | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,435 | 0,005 | 0,0055 | 0,0035 | 0,00385 | — 3 h. | Ralentissement de la respiration, paresse, somnolence. |
| 2 | 1,176 | 0,005 | 0,0055 | 0,0042 | 0,00462 | — 2—3 h. | Respiration irrégulière et ralentie, paresse très passagère. Mort après 7 jours. (Coccidiose). |
| 3 | 0,960 | 0,005 | 0,0055 | 0,0052 | 0,00572 | † 15' | Ralentissement rapide de la respiration et parésie. |
| 4 | 1,300 | 0,015 | 0.0165 | 0,0114 | 0.01254 | † 15' | Tombe rapidement (4'); tremblements dans les membres perceptibles au toucher. |
| 5 | 1,264 | 0,100 | 0,110 | 0,0790 | 0.08690 | † 5' | Tombe après 2' ; convulsions, paralysie. |
| 6 | 1,332 | 0,150 | 0,165 | 0,112 | 0,1232 | † 7' | Dyspnée, convulsions. |

Dose mortelle : 0,006 gr. par kgr. d'animal.

TABLEAU XIII. *Orthotolunitrile* $C_6H_4 < {CH_3 \atop CN}$. Densité 1,078.

| No | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,580 | 0,05 | 0,05 | 0,031 | 0,031 | — 1 h. | Très légère irrégularité respiratoire. |
| 2 | 1,237 | 0,40 | 0,40 | 0,323 | 0,323 | — 1 h. | Polypnée et parésie. Mort le 15e jour : coccidiose, diarrhée. |
| 3 | 1,554 | 0,80 | 0,80 | 0,514 | 0,514 | — 2—3 h. | Ralentissement respirat., somnolence. |
| 4 | 1,463 | 0,90 | 0,90 | 0,618 | 0,618 | † 3 1/2 jrs | Ne présente d'abord qu'une lég. paresse; tombe sur le flanc (2e jour), convuls. fréquentes, ne se relève plus. |
| 5 | 1,460 | 1,00 | 1,00 | 0,689 | 0,689 | † 2 1/2 jrs | Polypnée, puis ralentissement. Parésie 2e jour : tombe, respiration irrégulière, grincements de dents, légers mouvem. |
| 6 | 1,354 | 1,15 | 1,15 | 0,849 | 0,849 | † 12—13 h. | Ralentissement respirat.; animal paresseux, puis parésié, enfin paralyse. |

Dose mortelle : 0,600 gr. par kil. d'animal.

TABLEAU XIV. *Paratolunitrile* $C_6H_4 < {CN \atop CH_3}$.

| No | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE Quantité totale de la solution en c.c. | par kgr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,193 | 0,5 d'une solut. au 10e | 0,041 | — 10—20′ | Ne présente qu'un peu d'irrégularité respiratoire. |
| 2 | 1,520 | 1,5 d'une solut. au 10e | 0,099 | — 20—30′ | Respiration ralentie et irrégulière. |
| 3 | 1,092 | 3,5 d'une solut. au 10e | 0,320 | — 20—30′ | Irrégularité respiratoire. |
| 4 | 1,100 | 1,9 d'une solut. au 1/2 | 0,863 | — 1—2 h. | Irrégularité et léger ralentissement respiratoire. Legère parésie. |
| 5 | 1,103 | 1,5 d'une solut. 4 : 1 | 1,088 | † 16—17 h. | Rapidem. ralentissement et irrégularité respiratoires. Paresse, parésie, tombe sur le flanc ; grincements des dents. |
| 6 | 1,228 | 2,35 même solution. | 1,528 | † 4—5 h. | Irrégularité respiratoire, parésie, etc. |

Dose mortelle : environ 1 gr. par kil. d'animal.

*Remarque.* — Le tolunitrile para, comme les naphtonitriles α et β, sont solides et insolubles à froid dans la plupart des liquides inertes aptes à servir de véhicule pour les injections.

Nous avons renoncé à déterminer leur toxicité chez la grenouille; quant au lapin, malgré des essais nombreux, nous ne pouvons fixer approximativement la dose mortelle que pour le paratolunitrile.

Afin de pouvoir injecter ces nitriles à l'état liquide, nous chauffions au bain-marie une quantité déterminée de substance mélangée à une quantité connue d'huile d'olive.

Un gramme de paratolunitrile était mélangé à de l'huile d'olive jusqu'à parfaire 10 c.c.; il faut pour obtenir une bonne solution chauffer jusqu'à 70—80°C. Pour le naphtonitrile α, 2 gr. étaient mélangés avec de l'huile d'olive jusqu'à obtenir 4 c.c.; il suffit, pour obtenir une solution parfaite, de chauffer jusque 60—70°C.

Enfin, pour le naphtonitrile β, 2 gr. étaient mis dans l'huile d'olive de manière à obtenir un volume de 4 c.c.; il faut porter le mélange jusqu'à une température de près de 100°C.

Même en laissant le récipient se refroidir jusque 40° environ, le mélange bien agité reste liquide assez longtemps pour être aspiré par une seringue et apte à être injecté.

TABLEAU XV. *Naphtonitrile* α $C_{10}H_6(OH)$-CN.

| N° | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE: Quantité totale de la solution en c.c. | QUANTITÉ INJECTÉE: par kgr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,530 | 0,50 d'une solut. au 10e | 0,032 | — 30—40' | Légère accélération respiratoire. Excitation passagère. |
| 2 | 1,325 | 1,5 même solution | 0,113 | — 1 h. | Légère irrégularité respiratoire. |
| 3 | 1,113 | 4 même solution | 0,359 | — 1/2 h. | Légère irrégularité respiratoire; accélération puis ralentissement. Mort après 15 jours : diarrhée. |
| 4 | 0,935 | 1,90 solution 1/2 | 1,02 | — 1/2 h. | Légère irrégularité respiratoire; mort après 13 jours, par maladie intercurrente; peau légèrement adhérente, pas de nécrose. |

La dose mortelle du naphtonitrile α, comme celle du naphtonitrile β (ci-dessous), est donc manifestement supérieure à 1 gr. par kgr.

TABLEAU XVI. *Naphtonitrile* β, $C_{10}H_6(OH)$-CN.

| N° | Poids en kilogr. | QUANTITÉ INJECTÉE: Quantité totale de la solution en c.c. | QUANTITÉ INJECTÉE: par kgr. en gr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,920 | 1 solution 2 : 2 | 0,54 | — 2—3 h. | Légère irrégularité respirat. Paresse. |
| 2 | 0,745 | 0,95 solution 3 : 1 | 0,94 | — | Légère irrégularité respiratoire. Une demi-heure après on trouve la substance solidifiée sous la peau de l'animal. |
| 3 | 0,930 | 1,90 solution 2 : 2 | 1,02 | — 10—15' | Somnolence. |
| 4 | 0,950 | 2,40 solution 2 : 2 | 1,26 | — 12 h. | Animal paresseux; respiration ralentie. |

Résumons actuellement dans un premier tableau la toxicité des divers nitriles, étudiée chez la grenouille et le lapin; dans un second tableau,

nous mettrons en regard les doses mortelles chez les deux espèces animales, le poids moléculaire, le poids spécifique et le point d'ébullition de ces composés chimiques; nous ferons suivre ces données de la toxicité relative et absolue ainsi que de la toxicité relative moléculaire.

**Toxicité des mononitriles.**

| | POUR LA GRENOUILLE en mgr. par gr. d'animal ou en gr. par kgr. d'animal | POUR LE LAPIN en gr. par kgr. d'animal |
|---|---|---|
| Acétonitrile | 9,1 | 0,130 |
| Propionitrile | 8,0 | 0,065 |
| Butyronitrile | 3,1 | 0,010 |
| Isobutyronitrile | 5,0 | 0,009 |
| Isovaléronitrile | 4,0 | 0,045 |
| Isocapronitrile | 1,6 | 0,090 |
| Lactonitrile | 0,3 | 0,005 |
| Acide cyanacétique | 2,0 | 2,0 |
| Cyanacétate d'éthyle | 4,0 | 1,50 |
| Benzonitrile | 1,7 | 0,200 |
| Benzylnitrile | 1,5 | 0,050 |
| Tolunitrile ortho | 1,0 | 0,60 |
| Amygdalonitrile | 0,6 | 0,006 |
| Naphtonitrile α | | > 1, |
| Naphtonitrile β | | > 1, |

# PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES ET TOXICITÉ DES MONONITRILES.

| | | Acétonitrile | Propionitrile | Butyronitrile | Isobutyronitrile | Isovaléronitrile | Isocapronitrile |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Formules | $CH_3$-CN | $CH_3$-$CH_2$-CN | $CH_3$-$(CH_2)_2$-CN | $\frac{CH_3}{CH_3} > CH$-CN | $\frac{CH^3}{CH^3} > CH$-$CH_2$-CN | $\frac{CH_3}{CH_3} > CH$-$(CH_2)_2$-CN |
| | Poids moléculaire | 41 | 55 | 69 | 69 | 83 | 97 |
| | Poids spécifique | 0,805 | 0,801 | 0,795 | 0,77 | 0,8069 | 0,806 |
| | Point d'ébullition | 82° | 98° | 118°5 | 107—108° | 126—128° | 154° |
| Grenouille. | Toxicité absolue °/oo | 9,1 | 8 | 3,1 | 5,0 | 4 | 1,6 |
| | Dose isotoxique (Lactonitrile = 1) | 30 | 26 | 10 | 15 | 13 | 5 |
| | Isotoxie moléculaire (Lactonitrile = 1) | $\frac{9,1 \times 71}{41 \times 0,3} = 52$ | $\frac{8 \times 71}{55 \times 0,3} = 35$ | $\frac{3,1 \times 71}{69 \times 0,3} = 10,6$ | $\frac{5,0 \times 71}{69 \times 0,3} = 17,1$ | $\frac{4 \times 71}{83 \times 0,3} = 11,4$ | $\frac{1,6 \times 71}{97 \times 0,3} = 3,9$ |
| | Toxicité moléculaire absolue | 0,220 | 0,146 | 0,043 | 0,078 | 0,048 | 0,016 |
| Lapin. | Toxicité absolue °/oo | 0,130 | 0,065 | 0,010 | 0,009 | 0,045 | 0,090 |
| | Dose isotoxique (Lactonitrile = 1) | 26 | 13 | 2 | 2 | 9 | 18 |
| | Isotoxie moléculaire (Lactonitrile = 1) | $\frac{0,130 \times 71}{41 \times 0,005} = 45$ | $\frac{0,065 \times 71}{55 \times 0,005} = 16,7$ | $\frac{0,010 \times 71}{69 \times 0,005} = 2$ | $\frac{0,009 \times 71}{69 \times 0,005} = 1,8$ | $\frac{0,045 \times 71}{83 \times 0,005} = 7,7$ | $\frac{0,09 \times 71}{97 \times 0,005} = 13$ |
| | Toxicité moléculaire absolue | 0,003 | 0,0012 | 0,00014 | 0,00013 | 0,00054 | 0,0009 |

## PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES ET TOXICITÉ DES MONONITRILES (*suite*).

| | | LACTONITRILE | ACIDE CYANACÉTIQUE | CYANACÉTATE D'ÉTHYLE | BENZONITRILE | BENZYLNITRILE | TOLUNITRILE ORTHO | AMYGDALONITRILE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Formules | $CH_3$-CHOH-CN | CN-$CH_2$-COOH | CN-$CH_2$-$CO_2$-$C_2H_5$ | $C_6H_5$-CN | $C_6H_5$-$CH_2$-CN | $C_6H_4 < {CN \atop CH_3}$ | $C_6H_5$-CHOH-CN |
| | Poids moléculaire | 71 | 85 | 113 | 103 | 117 | 117 | 133 |
| | Poids spécifique | 1 | — | 1,06 | 1,023 | 1,01 | 1,078 | 1,124 |
| | Point d'ébullition | 182—184° | — | 207° | 190°7 | [illegible]31°7 | — | — |
| GRENOUILLE. | Toxicité absolue °/oo | 0,3 | 2 | 4 | 1,7 | 1,5 | 1 | 0,6 |
| GRENOUILLE. | Dose isotoxique (Lactonitrile = 1) | 1 | 6,5 | 13 | 6 | 5 | 3,3 | 2 |
| GRENOUILLE. | Isotoxie moléculaire (Lactonitrile = 1) | 1 | $\frac{2 \times 71}{85 \times 0,3} = 5$ | $\frac{4 \times 71}{113 \times 0,3} = 8,3$ | $\frac{1,7 \times 71}{103 \times 0,3} = 4$ | $\frac{1,5 \times 71}{117 \times 0,3} = 3$ | $\frac{1 \times 71}{117 \times 0,3} = 2$ | $\frac{0,6 \times 71}{133 \times 0,3} = 1,1$ |
| GRENOUILLE. | Toxicité moléculaire absolue | 0,004 | 0,023 | 0,035 | 0,016 | 0,013 | 0,008 | 0,0045 |
| LAPIN. | Toxicité absolue °/oo | 0,005 | 2 | 1,50 | 0,200 | 0,050 | 0,610 | 0,006 |
| LAPIN. | Dose isotoxique (Lactonitrile = 1) | 1 | 400 | 300 | 40 | 10 | 122 | 1,2 |
| LAPIN. | Isotoxie moléculaire (Lactonitrile = 1) | 1 | $\frac{2 \times 71}{85 \times 0,005} = 334$ | $\frac{1,5 \times 71}{113 \times 0,005} = 188$ | $\frac{0,2 \times 71}{103 \times 0,005} = 25,5$ | $\frac{0,05 \times 71}{117 \times 0,005} = 6$ | $\frac{0,61 \times 71}{117 \times 0,005} = 5$ | $\frac{0,006 \times 71}{133 \times 0,005} = 0,64$ |
| LAPIN. | Toxicité moléculaire absolue | 0,00009 | 0,023 | 0,013 | 0,002 | 0,0004 | 0,005 | 0,00045 |

CONCLUSIONS. — Des expériences qui précèdent se dégagent, entre autres, les conclusions suivantes :

1. La toxicité des nitriles gras normaux (acétonitrile, propionitrile, butyronitrile), chez la grenouille comme chez le lapin, augmente, et cela dans le rapport de 9 : 8 : 3 °/₀₀ pour la grenouille et de 0,130 : 0,065 : 0,010 °/₀₀ pour le lapin.

2. Les deux butyronitriles sont sensiblement isotoxiques chez le lapin (0,010 : 0,009 °/₀₀), tandis que chez la grenouille l'isobutyronitrile est notablement moins toxique que le butyronitrile normal (3,1 : 5,0 °/₀₀).

3. La toxicité des nitriles iso(isobutyronitrile, isovaléronitrile, isocapronitrile), augmente chez la grenouille dans le rapport de 5,0 : 4 : 1,6 °/₀₀, tandis que chez le lapin elle décroit dans le rapport de 0,009 : 0,045 : 0,090 °/₀₀. La grenouille et le lapin se comportent donc vis à vis des mononitriles supérieurs autrement que vis à vis des dinitriles normaux(1).

4. L'introduction de OH dans $CH_2$ du propionitrile, pour donner le lactonitrile, élève la toxicité de 8,0 à 0,3 °/₀₀ chez la grenouille, soit de 26 fois, et de 0,065 à 0,005 chez le lapin, soit de 13 fois. La toxicité de HCN étant de 0,112 °/₀₀ chez la grenouille, de 0,002 °/₀₀ chez le lapin, il en résulte que la molécule de $CH_3$-CH(OH)-CN (poids moléculaire 71) est aussi toxique que celle de HCN (poids moléculaire 27). En effet :

$$\text{Grenouille} : 0,112 : 0,3 :: 27 : 71 :: 1 : x. \text{ D'où } x = \frac{795}{81} = 0,98$$

$$\text{Lapin} : 0,002 : 0,005 :: 27 : 71 :: 1 : x. \text{ D'où } x = \frac{142}{135} = 1,0$$

5. La toxicité de l'acide cyanacétique est la même chez la grenouille que chez le lapin, soit 2 °/₀₀. Le syndrome qu'il provoque diffère manifestement de celui des nitriles; en outre, comme nous le verrons plus loin, l'hyposulfite est sans action sur cette intoxication. Il paraît en résulter que dans ce composé le radical carboxyle agit seul et que le radical cyanogène est devenu absolument inactif par la présence de COOH.

6. L'éther éthylique de l'acide cyanacétique est, comparativement à ce dernier, une fois moins toxique chez la grenouille, tandis qu'il devient légèrement plus toxique chez le lapin. La neutralisation de la fonction acide explique cette diminution de la toxicité chez la grenouille; si l'effet inverse existe pour le lapin, c'est peut-être que l'éther y est décomposé, de sorte que les deux composants agissent simultanément.

7. La toxicité du benzonitrile, du benzylnitrile et du tolunitrile ortho

(1) HEYMANS et P. MASOIN : Loco citat., p. 98.

chez la grenouille augmente dans le rapport de 1,7 : 1,5 : 1 ; elle est aussi élevée que celle du plus toxique (isocapronitrile) des mononitriles étudiés par nous. Chez le lapin, par contre, le benzonitrile est moins toxique que le mononitrile le moins actif (acétonitrile). Dès qu'un radical $CH_2$ sépare $C_6H_5$ de CN, celui-ci acquiert une activité dépassant celle du propionitrile. Par contre, la substitution de H par $CH_3$ dans $C_6H_5$, diminue considérablement la toxicité. Sans que nous puissions en indiquer la raison, nous relevons de nouveau ce fait (outre ceux signalés plus haut et ceux que nous signalerons plus loin), qui démontre l'action différente de plusieurs nitriles suivant qu'il s'agit de la grenouille ou du lapin.

8. L'introduction de OH dans $C_6H_5$-$CH_2$-CN (benzylnitrile) pour donner $C_6H_5$-CH(OH)-CN (amygdalonitrile) élève la toxicité de 1,5 à 0,6 ‰ chez la grenouille, soit de 2,5 fois, et de 0,050 à 0,006 ‰ chez le lapin, soit de 8 fois. La toxicité moléculaire de l'amygdalonitrile (p. moléc. = 133) et celle de HCN (p. moléc. = 27) chez le lapin, sont entre elles comme

$$0,006 : 0,002 :: 133 : 27 :: 1 : x. \text{ D'où } x = \frac{266}{162} = 1,6$$

c'est-à-dire que la molécule de $C_6H_5$-CH(OH)-CN est 1,6 fois plus toxique que celle de HCN. Si par contre OH, au lieu de remplacer H d'un chaînon gras, se substitue à un H du radical aromatique, la toxicité n'est nullement augmentée : la dose mortelle des 2 naphtonitriles dépasse un gramme par kilogramme.

Exposons brièvement la symptomatologie déterminée par ces substances. Les divers nitriles, à part l'acide cyanacétique et son éther ét hylique, déterminent des symptômes très semblables, tant chez la grenouille que chez le lapin.

*Grenouille.* — L'intoxication apparaît toujours rapidement et se manifeste en tout premier lieu par des symptômes respiratoires : la respiration, un moment accélérée, devient insensiblement plus lente et irrégulière en étendue et en fréquence. Cette irrégularité peut être suivie de l'abolition complète de la respiration, même pour une dose non mortelle, mais assez forte.

Après un temps variable, apparaissent les troubles neuro-musculaires. Après une période d'agitation très passagère survenant immédiatement après l'injection, les mouvements deviennent dans la suite incoordonnés (convulsions réflexes). La parésie s'installe ensuite, laquelle est suivie de paralysie. L'état de dépression nerveuse s'accompagne de tremblements (trémulations), soit seulement dans les muscles en contraction, soit aussi dans les muscles à l'état de repos. Quand la parésie est complète, on

observe encore des contractions fibrillaires dans les différents muscles des membres et du tronc.

Alors que ces contractions existent, quand la parésie a débuté à peine, l'animal présente par moments des secousses dans les muscles des membres; d'autres fois, il s'établit ainsi un véritable tétanos. Ces contractions sont surtout fréquentes au début et vers la fin de la paralysie. Quand celle-ci dure depuis longtemps ou qu'elle se termine par la mort, ces contractions diminuent graduellement en étendue et en intensité, jusqu'à disparition complète.

Dans l'intoxication par l'acide cyanacétique et par son éther, les tremblements musculaires et les contractions fibrillaires ne s'observent pas : la dépression nerveuse s'installe d'emblée et augmente progressivement.

*Lapin.* — Chez le lapin, l'intoxication apparaît avec une rapidité qui varie d'après la dose employée : pour une dose nettement mortelle, elle débute, en moyenne après 5 à 10 minutes environ, par des troubles respiratoires. L'apparition est particulièrement rapide pour le lactonitrile, l'orthotolunitrile et l'amygdalonitrile.

La respiration présente d'abord une période de polypnée souvent très caractéristique, mais qui ne dure guère que 10—15—20 minutes. Elle est suivie de dyspnée qui va en croissant jusqu'à la mort : la respiration devient irrégulière, se ralentit, et finalement il ne se produit pendant un temps assez long que 5—6 inspirations par minute, très profondes.

En ce qui concerne la rapidité de l'intoxication par chacune de ces substances, celle du lactonitrile, du benzylnitrile et de l'amygdalonitrile évolue dans l'intervalle de temps le plus court : la mort survient respectivement après 10'—1 heure, 1—2 heures, et 5—15 minutes, pour des doses simplement mortelles.

A l'autre extrémité nous trouvons le benzonitrile et l'orthotolunitrile, qui ne déterminent la mort respectivement qu'après 1—2 jours, 2—3 jours.

Les autres nitriles agissent en général d'une manière assez aiguë (mort survenant endéans 5—10—15 heures environ).

Pour tous les nitriles étudiés, même ceux qui provoquent les intoxications mortelles les plus aiguës, des doses non mortelles déterminent une intoxication qui disparaît très rapidement, en moins d'un jour, parfois en 2—3 heures.

L'acide cyanacétique, à dose simplement mortelle, tue en 1 ½ jour; des doses moindres déterminent la mort à longue échéance, par suite des lésions locales. Le cyanacétate d'éthyle, au contraire, tue déjà en 1—3 h.; il est sans action locale.

L'intoxication par tous ces nitriles débute aussi par des troubles respiratoires. Après un temps plus ou moins long, mais en général assez rapidement, apparaît de la parésie. D'abord couché sur le ventre, les membres irrégulièrement étendus, l'animal tombe bientôt sur le flanc. Le plus souvent alors il fait encore quelques efforts pour se relever, puis il n'exécute plus que de simples mouvements irréguliers. Les réflexes faiblissent de plus en plus, jusqu'à disparaître entièrement.

Les symptômes de dépression nerveuse s'installent également d'emblée dans l'intoxication par l'acide cyanacétique et son éther éthylique.

Dans l'intoxication par chacun des autres nitriles, l'état paralytique se complique de phénomènes d'excitation. Ceux-ci sont d'ordinaire légers; ils sont presque nuls pour l'acétonitrile et le butyronitrile, etc.; ils s'accentuent de plus en plus pour le capronitrile, le lactonitrile, l'orthotolunitrile, etc., et finissent par prédominer sur les phénomènes paralytiques; toutefois, ceux-ci existent seuls dans la période avancée de l'intoxication.

Avant la période de parésie, on peut observer une période d'agitation passagère, mais très accentuée. Au début de la parésie, il se produit du trismus, des grincements de dents; la tête est rejetée en arrière, tout le corps est agité de tremblements. Au moment de tomber sur le flanc, l'animal se raidit en opisthotonos, mais à mesure que la paralysie progresse les mouvements convulsifs disparaissent.

# *DEUXIÈME PARTIE.*

## Pouvoir antitoxique de l'hyposulfite de soude vis à vis des mononitriles gras et aromatiques.

### *A*. Expériences sur la grenouille.

Nous tentâmes d'abord la désintoxication chez la grenouille, en réalisant les diverses combinaisons d'administration du poison et du contrepoison : l'hyposulfite fut injecté à des intervalles variables, avant ou après les nitriles, soit en une fois, soit à plusieurs reprises, tout en restant toujours en deçà de la dose mortelle (environ 6 mgr. par gramme). Nous résumons ci-dessous nos essais avec l'acétonitrile.

*A*. GRENOUILLES. — *Acétonitrile et Hyposulfite.*

| No | Heures | HYPOSULFITE par animal. Solution normale en c.c. | en mgr. | ACÉTONITRILE en mgr. par animal | par gr. | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 6,27 | 0,25 | 39,5 | | | Poids : 24 gr. |
| | 6,32 | | | | | Respiration un peu irrégulière. |
| | 6,42 | 0,25 | 39,5 | | | |
| | 6,53 | | | | | Respiration lente et irrégulière. |
| | 6,57 | 0,25 | 39,5 | | | |
| | 7,05 | | | 240 | 8 | |
| | 7,17 | | | | | Paralysie et anesthésie passagères. Mort après 2 jours environ. |
| 2 | 5,05 | | | 160 | 8,8 | Poids : 18 gr. |
| | 5,06 | | | | | Parésie; se laisse mettre sur le dos. |
| | 5,07 | 0,20 | 31,6 | | | |
| | 5,08 | | | | | Ne rétracte plus les membres ; respiration nulle. |
| | 5,09 | 0,20 | 31,6 | | | |
| | 5,11 | | | | | Paralysie, anesthésie. Ne répond qu'à de fortes excitations. |
| | 5,13 | 0,20 | 31,6 | | | Mort après 2 h. 1/2. |
| 3 | 6,42 | 0,30 | 47,4 | | | Poids : 22 gr. |
| | 6,44 | | | 200 | 8,8 | |
| | 6,51 | | | | | Paralysie, anesthésie. |
| | 7,25 | | | | | Parfois quelques légers tremblements. |
| | 7,41 | | | | | Se déplace faiblement. Survie. |
| 4 | 7,00 | | | 240 | 9,6 | Poids : 25 gr. |
| | 7,01 | | | | | Respiration très irrégulière, parésie. |
| | 7,02 | 0,15 | 23,7 | | | La parésie augmente. |
| | 7,18 | 0,15 | 23,7 | | | |
| | 7,30 | 0,15 | 23,7 | | | Etat stationnaire. |
| | 12,00 | | | | | Amélioration. Survie. |
| 5 | 6,19 | 0,35 | 55,3 | | | Poids : 23 gr. |
| | 6,24 | | | 240 | 10,4 | |
| | 6,25 | | | | | Respiration très irrégulière; tremblements fibrillaires à l'abdomen. Incoordination motrice. |
| | 6,29 | | | | | Parésie; par moments paralysie. Mort après 1 jour environ. |
| 6 | 6,10 | 0,25 | 39,5 | | | Poids : 14 gr. |
| | 6,37 | | | | | Légère accélération respirat.; motilité normale. |
| | 6,39 | | | 160 | 10,9 | |
| | 6,41 | | | | | Respiration accélérée, irrégulière; paresse. |
| | 6,45 | | | | | Parésie croissante. Survie. |
| 7 | 4,05 | 0,45 | 71,1 | | | Poids : 22 gr. |
| | 4,35 | | | | | Respiration légèrement accélérée, un peu irrégulière, souvent superficielle; mouvements un peu irréguliers. |
| | 4,39 | | | 200 | 12,7 | |
| | 4,41 | | | | | Respiration accélérée, irrégulière ; paresse. |
| | 4,45 | | | | | Parésie croissante. Mort après moins de 24 heures. |
| 8 | 6,15 | 0,45 | 71,1 | | | Poids : 28 gr. |
| | 6,43 | | | 360 | 13,2 | Respiration un peu irrégulière. |
| | 6,48 | | | | | Paralysie, anesthésie. |
| | 7,31 | | | | | Répond aux excitations parfois par un petit mouvement, parfois par une inspiration. Réflexe cornéen nul. Mort après 2—3 heures. |

| No | Heures | Hyposulfite par animal. Solution normale | | Acétonitrile en mgr. | | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | en c.c. | en mgr. | par animal | par gr. | |
| 9 | 3,02 | 0,30 | 47.4 | | | Poids : 17 gr. |
| | 4,07 | | | | | Respiration accélérée, parfois irrégulière. |
| | 4,20 | | | 240 | 14 | Légère paresse. |
| | 4,30 | | | | | Incoordination, parésie. |
| | 4,50 | | | | | Respiration irrégulière, superficielle, parfois nulle; membres antérieurs animés de légers tremblements. |
| | 5,05 | | | | | Paralysie, anesthésie. |
| | 5,25 | | | | | Mort après 2 1/2 h. |
| 10 | 6,20 | 0,30 | 47,4 | | | Poids : 18 gr. |
| | 6,50 | | | 280 | 15,5 | Respiration accélérée. |
| | 6,58 | | | | | Parésie croissante. |
| | 7,08 | | | | | Paralysie, anesthésie. |
| | 15,00 | | | | | Amélioration. |
| | | | | | | Survie. |
| 11 | 4,15 | 0,30 | 47,4 | | | Poids : 15 gr. |
| | 4,45 | | | 240 | 16 | |
| | 5,00 | | | | | Paralysie des membres antérieurs; répond aux excitations par de légers mouvements aux membres postérieurs. |
| | 6,45 | | | | | Mort après 2 1/2 h. |
| 12 | 6,25 | 0,40 | 63,2 | | | Poids : 22 gr. |
| | 6,55 | | | 360 | 16,3 | |
| | 6,59 | | | | | Respiration irrégulière, parésie accentuée. |
| | 7,10 | | | | | Paralysie, anesthésie. |
| | 8,00 | | | | | Après 2 heures : mort. |
| 13 | 6,30 | 0,30 | 47,4 | | | Poids : 16 gr. |
| | 7,00 | | | 280 | 17,6 | Respiration un peu irrégulière. |
| | 7,03 | | | | | Immobile, bouche ouverte, respiration nulle, paralysie des membres antérieurs, parésie des membres postérieurs. |
| | 7,43 | | | | | Mort après 1 heure. |

Nous pourrions présenter des tableaux d'expériences analogues pour tous les autres nitriles; toutes ces expériences démontrent le même fait, à savoir : chez la grenouille l'hyposulfite de soude n'exerce vis à vis de ces nitriles aucune action antitoxique; la mort survient déjà avec des doses de nitrile n'atteignant pas la dose mortelle du poison donné seul. La symptomatologie de l'intoxication après administration des deux substances diffère légèrement de celle déterminée par le nitrile seul. Les contractions fibrillaires et les tremblements ne se constatent qu'exceptionnellement; il se produit plutôt un ensemble de troubles et de symptômes de dépression (parésie, paralysie), sans période d'excitation.

Nous pouvons ajouter que chez la grenouille, l'hyposulfite n'est pas davantage un contrepoison pour les dinitriles, comme le démontrent des expériences, non publiées, de Heymans et P. Masoin.

Nous avons recherché la raison de cette inactivité de l'hyposulfite vis à vis de l'intoxication nitrilique chez la grenouille, alors qu'elle est si manifeste chez le lapin, comme on le verra plus loin. L'expérimentation systématique dans divers sens nous a permis finalement de découvrir que le sulfocyanure de potassium est, chez la grenouille, aussi toxique que le plus toxique des di- ou des mononitriles.

En effet, la dose sûrement mortelle du sulfocyanure de potassium chez la grenouille est de 0,24 mgr. par gramme d'animal. Eu égard au poids moléculaire (KCNS = 97), cette dose est moins élévée que celle d'aucun nitrile. Prenons, par exemple, le lactonitrile (dose mortelle = 0,3 mgr. par gramme, poids moléculaire 71) :

$$71 : 97 :: 0{,}3 : x. \text{ D'où } x = 0{,}40.$$

D'autre part, diverses recherches nous autorisent à conclure qu'après administration du nitrile en association à l'hyposulfite, il se forme du sulfocyanure dans le corps de la grenouille.

Si donc l'hyposulfite n'est pas antitoxique pour les nitriles, c'est qu'il ne peut l'être qu'en donnant naissance à -CNS; or celui-ci est plus toxique que -CN. La raison de cette haute toxicité de -CNS chez la grenouille, contrairement à ce qui se présente chez les animaux à sang chaud, nous échappe.

### *B*. Expériences sur le lapin.

Par contre, le pouvoir antitoxique de l'hyposulfite vis à vis de la plupart des nitriles est manifeste chez le lapin, comme le démontrent les expériences suivantes.

Afin d'avoir des données comparables, nous avons institué une série d'expériences où le poison et le contrepoison furent injectés presque simultanément, ce dernier immédiatement après le premier, soit avec un intervalle d'une minute environ, l'un dans le flanc droit, l'autre dans le flanc gauche. Le poison, le plus souvent comme tel, fut administré à des doses variables, l'antidote fut constamment injecté à la dose de 2 gr. par kgr. d'animal, soit environ la moitié de la dose mortelle. A cet effet, nous avons employé une solution normale double, c'est-à-dire à 31,6 % (poids moléculaire de $Na_2S_2O_3$ crist. = 246, de $Na_2S_2O_3$ anhydre = 158).

## TABLEAU I. *Acétonitrile et Hyposulfite.*

Dose mortelle de l'acétonitrile : 0,130 gr. par kgr. Densité 0,805.

| No | Poids en kilogr. | ACÉTONITRILE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | HYPOSULFITE en gr. par animal | HYPOSULFITE en gr. par kgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,040 | 0,25 | 0,20 | 0,24 | 0,191 | 2,212 | 2 | — | Durant 2 h. environ : légère irrégularité respiratoire ; somnolence. |
| 2 | 1,330 | 0,50 | 0,40 | 0,376 | 0,301 | 2,844 | 2 | — | 1 h. : légère irrégularité respiratoire ; somnolence. Mort après 4 jours ; urines, sulfocyanure. |
| 3 | 0,869 | 0,35 | 0,28 | 0,400 | 0,322 | 1,896<br>1,580 | 2<br>0,17 | — | Après 17 h., est brusquement atteint de tremblements ; parésie 1—2 jours ; |
| 4 | 1,075 | 0,50 | 0,40 | 0,465 | 0,374 | 2,212 | 2 | — | Pendant 3—6 h., irrégularité respirat., somnolence. |
| 5 | 1,075 | 0,55 | 0,44 | 0,514 | 0,413 | 2,212 | 2 | † | Irrégularité respiratoire; après 2 h., devenue normal. Mort après 24 h. assez brusquement. Urines avec sulfocyanure. |
| 6 | 1,145 | 0,70 | 0,56 | 0,61 | 0,491 | 2,212 | 2 | † | Légère irrégularité respiratoire pendant 1—2 h., mort après 18—19 h. brusquement. Sulfocyanure dans les urines. |
| 7 | 0,955 | 0,70 | 0,50 | 0,73 | 0,587 | 2,212 | 2 | † | Légère irrégularité respiratoire pendant 2—3 h. Mort après 3 jours. |
| 8 | 0,755 | 0,75 | 0,60 | 0,72 | 0,579 | 1,580 | 2 | † | Irrégularité respiratoire. Mort après 40 h. environ. |
| 9 | 1,152 | 1,6 | 1,28 | 1,28 | 1,030 | 2,212 | 2 | † | Irrégularité respiratoire et paresse. Mort après 18 h. Sulfocyanure dans les urines. |

Limite supérieure du pouvoir antitoxique de l'hyposulfite : 0,370 gr. par kgr., soit trois fois la dose mortelle.

## TABLEAU II. *Propionitrile et Hyposulfite.*

Dose mortelle du propionitrile : 0,065 gr. par kgr. Densité 0,801.

| No | Poids en kilogr. | PROPIONITRILE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | HYPOSULFITE en gr. par animal | HYPOSULFITE en gr. par kgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,082 | 0,10 | 0,08 | 0,09 | 0,072 | 2,212 | 2 | — | Troubles respiratoires et paresse (douteux) 1 h. urines avec sulfocyanure. |
| 2 | 1,030 | 0,20 | 0,16 | 0,194 | 0,155 | 2,212 | 2 | — | Troubles respiratoires et paresse (douteux) urines avec sulfocyanure. |
| 3 | 0,825 | 0,20 | 0,16 | 0,240 | 0,192 | 1,896 | 2 | † | Polypnée ; respiration irrégulière ; somnolence. Mort après 5—10 h. Urines ; traces de sulfocyanure. |
| 4 | 1,040 | 0,30 | 0,24 | 0,288 | 0,230 | 2,212 | 2 | † | Irrégularité respiratoire et somnolence passagère. Mort après 6—12 h. |
| 5 | 0,981 | 0,35 | 0,28 | 0,355 | 0,284 | 2,212 | 2 | † | Irrégularité respiratoire et paresse passagère. Mort après 6—12 h. Vessie vide. |

Limite supérieure du pouvoir antitoxique : 0,170 gr. par kgr., soit 2,5 fois la dose mortelle.

Tableau III. *Butyronitrile et Hyposulfite.*
Dose mortelle du butyronitrile : 0,010 gr. par kgr. Densité 0,775.

| N° | Poids en kilogr. | BUTYRONITRILE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | HYPOSULFITE en gr. par animal | par kgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,253 | 0,05 | 0,04 | 0,04 | 0,031 | 2,528 | 2 | — | Légère irrégularité respiratoire pendant 30' environ. |
| 2 | 1,075 | 0,10 | 0,08 | 0,093 | 0,072 | 2,212 | 2 | — | Légère irrégularité respiratoire. Somnolence 2—4 h. |
| 3 | 1,241 | 0,15 | 0,12 | 0,120 | 0.093 | 2,528 | 2 | — | Légère irrégularité respiratoire. Légère paresse (?) 1 h. environ. |
| 4 | 1,572 | 0,35 | 0,28 | 0,223 | 0,172 | 3,160 | 2 | † | Légère irrégularité respiratoire 2—3 h. Mort après 4 jrs; urines avec sulfocyan. |
| 5 | 1,622 | 0,50 | 0,40 | 0,314 | 0,243 | 3,160 | 2 | † | Irrégularité respiratoire et somnolence. Mort après 5—10 h. |
| 6 | 1,400 | 0,45 | 0,36 | 0,321 | 0,248 | 2,212 | 2 | † | Parésie passagère après la 1re h.; puis irrégular. respirat. Mort après 5—10 h. |
| 7 | 1,438 | 0,60 | 0,48 | 0,416 | 0,322 | 2,844 | 2 | † | Polypnée, parésie pendant la 1re heure, puis diminue. Irrégularité respiratoire. Mort après 4—8 h. |
| 8 | 1,174 | 0,60 | 0,48 | 0 510 | 0,395 | 2,212 | 2 | † | Forte irrégularité respiratoire et parésie à la 1re h. L'irrégularité respiratoire persiste. Mort après 2—4 h. |

Limite supérieure du pouvoir antitoxique : environ 0,100 gr. par kgr., soit 10 fois la dose mortelle.

Tableau IV. *Isobutyronitrile et Hyposulfite.*
Dose mortelle de l'isobutyronitrile : 0,009 gr. par kgr. Densité 0,77.

| N° | Poids en kilogr. | ISOBUTYRONITRILE par animal en c.c. | par animal en gr. | par kilogr. en c.c. | par kilogr. en gr. | HYPOSULFITE en gr. par animal | par kgr. | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,238 | 0,05 | 0,038 | 0,040 | 0,030 | 2,528 | 2 | — | Légère accélération respiratoire. Mort après 12 jours. Coccid. diarrhée. |
| 2 | 1,300 | 0,065 | 0,050 | 0,050 | 0,038 | 2,528 | 2 | — | Légère irrégul. respiratoire : 2—3 h. |
| 3 | 1,285 | 0,100 | 0,077 | 0,077 | 0,058 | 2,528 | 2 | — | Respir. irrégulière. Somnolence : 2—3 h. |
| 4 | 1,654 | 0,20 | 0,154 | 0,120 | 0,092 | 3,476 | 2 | — | » » » » |
| 5 | 1,090 | 0,15 | 0,115 | 0,137 | 0,105 | 2,212 | 2 | † | Respiration irrégulière et paresse pendant 1—2 h. Mort après 16 h. Urines avec sulfocyan. |
| 6 | 1,209 | 0,60 | 0,462 | 0,50 | 0,385 | 2,528 | 2 | † | Respiration irrégulière et parésie pendant les 2—3 premières heures. Mort après 6—12 h. Sulfocyan. dans les urines. |
| 7 | 0,890 | 0,90 | 0,692 | 1,01 | 0,770 | 1,896 | 2 | † | Rapidement forte intoxic. Mort après 17 h. Sulfocyan. dans les urines. |

Limite supérieure du pouvoir antitoxique : 0,090 gr. par kgr., soit 10 fois la dose mortelle.

## TABLEAU V. *Isovaléronitrile et Hyposulfite.*

Dose mortelle de l'isovaléronitrile : 0,045 gr. par kgr. Densité 0,800.

| No | Poids en kilogr. | ISOVALÉONITRILE par animal en c.c. | en gr. | par kilogr. en c.c. | en gr. | HYPOSULFITE en gr. par animal | par kgr. | Survie — Mort † | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,022 | 0,25 | 0,20 | 0,244 | 0,195 | 2,212 | 2 | — | Polypnée passagère; parésie pendant deux heures, urines avec sulfocyanure. Mort après 15 jours; coccidiose, urines sans sulfocyanure. |
| 2 | 0,900 | 0,30 | 0,24 | 0,333 | 0,266 | 1,896 | 2 | — | Forte intoxication pendant les 3—5 premières heures. Lendemain : normal. Mort après 7 jours. Coccidiose. Sulfocyanure. |
| 3 | 1,423 | 0,50 | 0,40 | 0,35 | 0,280 | 2,844 | 2 | — | Forte intoxication pendant 2—3 h., puis somnolence. |
| 4 | .0820 | 0,30 | 0,24 | 0,367 | 0,293 | 1,896 | 2 | — | Forte intoxication la première heure; puis somnolence. |
| 5 | 1,063 | 0,40 | 0,32 | 0,36 | 0,295 | 2,212 | 2 | † | Irrégularité respiratoire et somnolence pendant les 2—3 premières heures. Mort après 5—10 h. |
| 6 | 0,890 | 0,40 | 0,32 | 0,44 | 0,362 | 1,896 | 2 | † | Rapidement forte intoxication. Mort après 3—5 h. |
| 7 | 1,090 | 0,55 | 0,44 | 0,500 | 0,400 | 2,212 | 2 | † | Intoxication très rapide. Mort après 2 1/2 h. environ. Sulfocyanure dans les urines. |

Limite supérieure du pouvoir antitoxique : 0,290 gr. par kgr., soit 6,5 fois la dose mortelle.

## TABLEAU VI. *Isocapronitrile et Hyposulfite.*

Dose mortelle de l'isocapronitrile : 0,090 gr. par kgr. Densité 0,806.

| No | Poids en kilogr. | ISOCAPRONITRILE par animal en c.c. | en gr. | par kilogr. en c.c. | en gr. | HYPOSULFITE en gr. par animal | par kgr. | Survie — Mort † | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,880 | 0,10 | 0,080 | 0,113 | 0,091 | 1,896 | 2 | — | Pendant la première heure parésie; accès tétaniques, etc., dimin. après 2—3 h. |
| 2 | 1,248 | 0,15 | 0,12 | 0,12 | 0,096 | 2,528 | 2 | — | Respiration irrégulière, tremblements, etc., pendant 1—2 h., puis respiration irrégulière et parésie : 3—6 h. Mort après 3 jours. Forte diarrhée. |
| 3 | 1,208 | 0,15 | 0,12 | 0,124 | 0,099 | 2,528 | 2 | — | Respiration irrégulière, parésie et somnolence passagères. 3—6 h. |
| 4 | 1,061 | 0,15 | 0,12 | 0,140 | 0,112 | 2,212 | 2 | † | Rapidement intoxiqué. Mort après 1 h. environ. |
| 5 | 1,452 | 0,35 | 0,28 | 0,240 | 0,193 | 2,844 | 2 | † | Polypnee, tremblements, etc., 1—2 h. |

Limite supérieure du pouvoir antitoxique : 0,100 gr. par kgr., soit 1,1 fois la dose mortelle.

TABLEAU VII. *Lactonitrile et Hyposulfite.*

Dose mortelle du lactonitrile : 0,005 gr. par kgr. Densité 1,0.

| N° | Poids en kilogr. | LACTONITRILE par animal en c.c. | | LACTONITRILE par kilogr. en c.c. | | HYPOSULFITE en gr. par animal | | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | en c.c. | en gr. | en c.c. | en gr. | par animal | par kgr. | | |
| 1 | 1,210 | 0,010 | 0,010 | 0,008 | 0,008 | 2,528 | 2 | — | Légers troubles respirat. : 1 h. environ. |
| 2 | 1,280 | 0,015 | 0,015 | 0,011 | 0,011 | 2,528 | 2 | — | Après 4' convulsions, respiration ralentie ; après 1 h. paraît mourant. Après 2 h. 30' redevenu normal. |
| 3 | 1,280 | 0,020 | 0,02 | 0,015 | 0,015 | 2,528 | 2 | † | Très rapidement (après 1—2') parésie, convulsions. Mort après 6'. |
| 4 | 1,000 | 0,020 | 0,020 | 0,020 | 0,020 | 2,212 | 2 | † | Mort après 10'. |

Limite supérieure du pouvoir antitoxique : 0,011 gr. par kgr., soit 2 fois la dose mortelle.

TABLEAU VIII. *Acide cyanacétique et Hyposulfite.*

Dose mortelle de l'acide cyanacétique : 2 gr. par kgr.

| N° | Poids en kilogr. | ACIDE CYANACÉTIQUE par animal | ACIDE CYANACÉTIQUE par kilogr. | HYPOSULFITE en gr. par animal | HYPOSULFITE en gr. par kgr. | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | gr. | gr. | | | | |
| 1 | 1,100 | 2,2 | 2,00 | 2,212 | 2 | † | Paresse, parésie passagère. Respiration irrégulière pendant 3—4 h. Mort après 6—12 h. Sulfocyan. dans les urines(?) |
| 2 | 0,952 | 4,0 | 4,2 | 2,528 | 2 | † | Après 2' parésie croissante. Mort après 15'. |

Action antitoxique nulle.

TABLEAU IX. *Cyanacétate d'éthyle et Hyposulfite.*

Dose mortelle du cyanacétate d'éthyle : 1,5 gr. par kgr. Densité 1,06.

| N° | Poids en kilogr. | CYANACÉTATE D'ÉTHYLE par animal | | CYANACÉTATE D'ÉTHYLE par kilogr. | | HYPOSULFITE en gr. | | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | en c.c. | en gr. | en c.c. | en gr. | par animal | par kgr. | | |
| 1 | 0,900 | 1,35 | 1,35 | 1,50 | 1,50 | 1,896 | 2 | † | Parésie, convulsions, etc. Mort après 2—3 h. |
| 2 | 1,112 | 2,80 | 2,80 | 2,50 | 2,62 | 2,212 | 2 | † | Rapidement ralentissement respiratoire, parésie, paralysie. Mort après 2 h. |
| 3 | 0,956 | 5,00 | 5,00 | 5,22 | 5,53 | 1,896 | 2 | † | Intoxication débutant rapidement. Mort après 1—1 1/2 h. |

Action antitoxique nulle.

## TABLEAU X. *Benzonitrile et Hyposulfite.*

Dose mortelle du benzonitrile : 0,200 gr. par kgr. Densité 1,02.

| N° | Poids en kilogr. | BENZONITRILE | | | | HYPOSULFITE en gr. | | Survie — † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | par animal | | par kilogr. | | | | | |
| | | en c.c. | en gr. | en c.c. | en gr. | par animal | par kgr. | | |
| 1 | 1,471 | 0,30 | 0,30 | 0,203 | 0,203 | 2,844 | 2 | † | Rapidement forte intoxication (respirat. irrégul., parésie, paralysie); durée, 36 h. |
| 2 | 1,160 | 0,25 | 0,25 | 0,215 | 0,215 | 2,212 | 2 | † | Somnolence, parésie, convulsions. Mort après 10—15 h. Urines avec sulfocyan. |
| 3 | 0,937 | 0,35 | 0,35 | 0,370 | 0,370 | 1,896 | 2 | † | Respiration irrégulière, somnolence. Lendemain : semble normal. Mort après 2 jours. |
| 4 | 1,2[illegible]3 | 0,55 | 0,55 | 0,456 | 0,456 | 2,528 | 2 | † | Intoxication assez rapide. Mort après 2—3 h. Urines avec sulfocyan. |

Action antitoxique douteuse. Comme on verra plus loin, l'action antitoxique se montre manifeste quand l'hyposulfite est administré un temps plus considérable avant le benzonitrile. (Voir p. 196.)

## TABLEAU XI. *Benzylnitrile et Hyposulfite.*

Dose mortelle du benzylnitrile : 0,050 gr. par kgr. Densité 1,01.

| N° | Poids en kilogr. | BENZYLNITRILE | | | | HYPOSULFITE en gr. | | Survie — † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | par animal | | par kilogr. | | | | | |
| | | en c.c. | en gr. | en c.c. | en gr. | par animal | par kgr. | | |
| 1 | 1,300 | 0,25 | 0,25 | 0,192 | 0,192 | 2,528 | 2 | — | Légère irrégularité respiratoire, paresse: 2—4 h. |
| 2 | 1,148 | 0,30 | 0,30 | 0,236 | 0,236 | 2,212 | 2 | — | Légère irrégularité respiratoire, somnolence : 2—4 h. |
| 3 | 1,362 | 0,35 | 0,35 | 0,257 | 0,257 | 2,844 | 2 | — | Légère irrégularité respiratoire, somnolence : 3—6 h. |
| 4 | 1,123 | 0,30 | 0,30 | 0,267 | 0,267 | 2,212 | 2 | — | Respiration irrégulière, fortement ralentie, parésie : 6—12 h. |
| 5 | 1,119 | 0,30 | 0,30 | 0,268 | 0,268 | 2,212 | 2 | — | Irrégularité respiratoire, paresse: 4—8 h. Urines avec sulfocyanure. |
| 6 | 1,020 | 0,30 | 0,30 | 0,294 | 0,294 | 2,212 | 2 | — | Respiration irrégulière, somnolence : 2 h. environ. |
| 7 | 0,812 | 0,25 | 0,25 | 0,300 | 0,300 | 1,896 | 2 | † | Intoxication rapide après 3/4 d'heure. Mort après 4—8 h. |
| 8 | 1,154 | 0,40 | 0,40 | 0,348 | 0,348 | 2,212 | 2 | † | Respiration irrégulière, somnolence, légère parésie. Mort après 3 jours : diarrhée, urines avec sulfocyanure. |
| 9 | 0,670 | 0,25 | 0,25 | 0,373 | 0,373 | 1,580 | 2 | † | Respiration irrégulière, parésie. Mort après 3—6 h. |

Limite supérieure du pouvoir antitoxique : 0,295 gr. par kgr., soit 6 fois la dose mortelle.

TABLEAU XII. *Orthotolunitrile et Hyposulfite.*

Dose mortelle de l'orthotolunitrile : 0,610 gr. par kgr. Densité 1,078.

| No | Poids en kilogr. | ORTHOTOLUNITRILE | | | | HYPOSULFISE en gr. | | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | par animal | | par kilogr. | | | | | |
| | | en c.c. | en gr. | en c.c. | en gr. | par animal | par kgr. | | |
| 1 | 1,300 | 0,80 | 0,80 | 0,615 | 0,615 | 2,844 | 2 | † | Respiration rapidement irrég., parésie ; forte intoxic. Mort après 1—1 1/2 jour. |
| 2 | 0,956 | 0,75 | 0,75 | 0,78 | 0,78 | 1,896 | 2 | † | Très rapidement respir. irrég., parésie, paralysie. Mort après 2—3 h. |

Pouvoir antitoxique nul.

TABLEAU XIII. *Amygdalonitrile et Hyposulfite.*

Dose mortelle de l'amygdalonitrile : 0,006 gr. par kgr. Densité 1,1.

| No | Poids en kilogr. | AMYGDALONITRILE | | | | HYPOSULFITE en gr. | | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | par animal | | par kilogr. | | | | | |
| | | en c.c. | en gr. | en c.c. | en gr. | par animal | par kgr. | | |
| 1 | 1,714 | 0,010 | 0,011 | 0,0058 | 0,0 63 | 3,476 | 2 | — | Semble mourant après 6'. 1—2 h. après, paraît complètement normal. |
| 2 | 1,158 | 0,010 | 0,011 | 0,0086 | 0,0094 | 2,212 | 2 | † | Paralysie. Mort après 4'. |

La mort survenant trop rapidement pour obtenir ici un résultat positif bien marqué, nous avons administré le poison 1/4 d'heure après l'administration de l'antidote.

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 1,400 | 0,015 | 0,016 | 0,010 | 0,011 | 2,844 | 2 | — | Somnolence, respiration irrégul., après 2—3' forte intoxic. : paralysie, accès de tétanos, etc. Après 2—3 h. rien que somnolence. |
| 4 | 0,712 | 0,010 | 0,011 | 0,014 | 0,015 | 1,580 | 2 | — | Paresse ; irrégularité respiratoire ; maximum d'intoxication après 13'. En 1 h. redevenu normal. |
| 5 | 1,075 | 0,025 | 0,027 | 0,023 | 0,025 | 2,212 | 2 | † | Mort après 6'. Urines avec sulfocyan. |

Limite supérieure du pouvoir antitoxique :

*a)* Injection simultanée du poison et du contre-poison : 0,0063 gr. par kgr., soit 1 fois la dose mortelle.

*b)* L'hyposulfite 1/4 d'heure avant : 0,015 gr. par kgr., soit 3 fois la dose mortelle.

La limite du pouvoir antitoxique de l'hyposulfite de soude vis-à-vis des divers mononitriles, les deux substances étant injectées simultanément, se trouve indiquée dans le tableau synoptique suivant :

TABLEAU XIV. *Pouvoir antitoxique de l'hyposulfite.*

| | Vis-à-vis de : | | Dose maximale désintoxiquée | Dose mortelle simple | Nombre de fois la dose mortelle |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | gr. | gr. | |
| 1 | Acétonitrile | $CH_3\text{-}CN$ | 0,370 | 0,130 | 3 fois |
| 2 | Propionitrile | $CH_3\text{-}CH_2\text{-}CN$ | 0,170 | 0,065 | 2,5 |
| 3 | Butyronitrile | $CH_3\text{-}(CH_2)_2\text{-}CN$ | 0,100 | 0,010 | 10 |
| 4 | Isobutyronitrile | $(CH_3)_2\text{-}CH\text{-}CN$ | 0,090 | 0,009 | 10 |
| 5 | Isovaléronitrile | $(CH_3)_2\text{-}CH\text{-}CH_2\text{-}CN$ | 0,290 | 0,045 | 6,5 |
| 6 | Isocapronitrile | $(CH_3)_2\text{-}CH\text{-}(CH_2)_2\text{-}CN$ | 0,100 | 0,090 | 1,1 |
| 7 | Lactonitrile | $CH_3\text{-}CH(OH)\text{-}CN$ | 0,010 | 0,005 | 2 |
| 8 | Acide cyanacétique | $CN\text{-}CH_2\text{-}COOH$ | | 2, | 0 |
| 9 | Cyanacétate d'éthyle | $CN\text{-}CH_2\text{-}CO_2\text{-}C_2H_5$ | | 1,5 | 0 |
| 10 | Benzonitrile | $C_6H_5\text{-}CN$ | | 0,200 | ? |
| 11 | Benzylnitrile | $C_6H_5\text{-}CH_2\text{-}CN$ | 0,295 | 0,050 | 6 |
| 12 | Tolunitrile ortho | $C_6H_4 < {CH_3 \atop CN}$ | | 0,610 | 0 |
| 13 | Amygdalonitrile | $C_6H_5\text{-}CH(OH)\text{-}CN$ | 0,0063 | 0,006 | 1,05 |

Avant de tirer les conclusions que comportent ces expériences, signalons que le pouvoir antitoxique de l'hyposulfite vis-à-vis des nitriles peut être élevé en administrant l'hyposulfite avant le poison, comme le démontrent les expériences suivantes I (acétonitrile) et V-VII (benzonitrile). D'autre part, les expériences II, III et IV mettent en évidence l'action curative de ce composé sulfuré vis-à-vis d'une intoxication très profonde par ces nitriles.

TABLEAU XV. *Hyposulfite injecté dans des conditions variables par rapport aux divers nitriles.*

| Poids en kilogr. | Temps | Quantité administrée par animal en c.c. | Quantité administrée par animal en gr. | Quantité administrée par kilogr. en c.c. | Quantité administrée par kilogr. en gr. | Hyposulfite en gr. par animal | Hyposulfite en gr. par kgr. | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | I. — Acétonitrile. | | | | |
| 2,403 | 0 h.20' | | | | | 4,74 | 2 | |
| | 0,0 | 2,5 | 2,0 | 1,03 | 0,83 | | | |
| | 14,30 | | | | | | | Convulsions, dyspnée; animal couché sur le flanc; réflexe cornéen faible. |
| | 14,50 | | | | | 3,16 | 1,3 | Se relève assez rapidem. après 1 h. env. |
| | 26,00 | | | | | | | Assez brusquement retombe sur le flanc; |
| | 26,30 | | | | | 1,58 | 0,6 | légère parésie. |
| | 38,00 | | | | | 1,58 | 0,6 | L'animal est agonisant; cependant se remet en 5—10 h. |
| | 5 jours | | | | | | | Il existe encore une faible quantité de sulfocyanure dans les urines. Survie. |

| Poids en kilogr. | Temps | QUANTITÉ ADMINISTRÉE | | | | HYPOSULFITE en gr. | | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | par animal | | par kilogr. | | | | |
| | | en c.c. | en gr. | en c.c. | en gr. | par animal | par kgr. | |
| | | | | **II. — PROPIONITRILE.** | | | | |
| 2,495 | 3' | | | | | | | Resp. 80 par minute ; température rectale 40°,2. |
| | 0,0 | 0,25 | 0,20 | 0,10 | 0,08 | | | |
| | 0,30 | | | | | | | Polypnée, parésie légère. |
| | 0,40 | | | | | | | Resp. 55, dyspnée ; parésie forte ; couché sur le flanc, mouvements convulsifs pour se mettre sur l'abdomen. |
| | 0,48 | | | | | | | Resp. 16 ; forte dyspnée ; paralysie ; température rectale 35°,7. |
| | 0,54 | | | | | 3,16 | 1,3 | |
| | 24 h. | | | | | | | A part une lég. paresse, l'anim. est norm. |
| | | | | **III. — PROPIONITRILE.** | | | | |
| 0,740 | 2' | | | | | | | Resp. 100 ; température rectale 38°,4. |
| | 0,0 | 0,06 | 0,048 | 0,083 | 0,07 | | | La respir. se ralentit rapidem., parésie. |
| | 1,20 | | | | | | | Resp. 36 ; température rectale 34°,2. Les deux continuent à descendre. |
| | 1,40 | | | | | | | Resp. 8—12 ; sensibilité réflexe presque nulle, animal mourant. |
| | 1,43 | | | | | 0,316 | 0,4 | En injection intraveineuse (V. marginale de l'oreille). |
| | 3-4h. | | | | | | | En 3—4 h. redevenu normal. |
| | | | | **IV. — ISOBUTYRONITRILE.** | | | | |
| 1,350 | 8' | | | | | | | Resp. 120 ; température rectale 40°. |
| | 0,0 | 0,035 | 0,026 | 0,026 | 0,020 | | | |
| | 0,15 | | | | | | | Polypnée. |
| | 0,40 | | | | | | | Parésie légère, mais croissante. |
| | 0,55 | | | | | | | Dyspnée ; tempér. rectale 36°,5 ; réflexe cornéen faible ; paralysie, lég. convuls. |
| | 1 h. | | | | | 1,58 | 1 | (Intraveineux.) |
| | 1,10 | | | | | | | La respiration s'accélère, efforts pour se relever, parésie très légère. |
| | 1,20 | | | | | | | Légers déplacements. |
| | 1,30 | | | | | | | Attitude normale. Survie. |
| | | | | **V-VII. — BENZONITRILE.** | | | | |
| 1,900 | 20' | | | | | 3,79 | 2 | |
| | 0,0 | 0,40 | 0,40 | 0,210 | 0,210 | | | |
| | 1 h. | | | | | | | A part une légère accélération respirat., l'animal est normal. Complètement normal après 2 h. |
| 1,852 | 15' | | | | | 3,79 | 2 | |
| | 0,0 | 0,40 | 0,40 | 0,220 | 0,220 | | | |
| | 1 h. | | | | | | | L'animal semble normal. |
| | 1r jour | | | | | | | Couché sur flanc, forte parés., resp. lente. |
| | 2e » | | | | | | | Semble normal. Survie. |
| 1,903 | 30' | | | | | 3,79 | 2 | |
| | 0,0 | 0,50 | 0,50 | 0,250 | 0,250 | | | |
| | 1 h. | | | | | | | Semble normal. |
| | 1r jour | | | | | | | Couché sur le flanc, forte intoxication. |
| | 2e » | | | | | | | Mort après 36—48 h. |

CONCLUSIONS. — 1. Chez la grenouille, le pouvoir antitoxique de l'hyposulfite de soude vis-à-vis des nitriles est nul attendu que le sulfocyanure formé est tout aussi toxique que le nitrile lui-même.

2. Chez le lapin, le pouvoir antitoxique de l'hyposulfite vis-à-vis des

mononitriles gras simples est très manifeste. Il est, jusqu'à un certain point, d'autant plus marqué que le nitrile est plus toxique : il s'étend jusqu'à 10 fois la dose mortelle pour les deux butyronitriles, 3 fois la dose mortelle pour l'acétonitrile, et 1,1 fois seulement la dose mortelle pour l'isocapronitrile; ce qui tend à démontrer que le pouvoir antitoxique s'affaiblit de plus en plus pour les nitriles supérieurs.

3. L'hyposulfite est certainement actif vis-à-vis du lactonitrile, puisque nous pouvons donner ainsi deux fois la dose mortelle; ce pouvoir antitoxique est à peu près de même ordre que celui qui possède cette même substance vis-à-vis du cyanure de potassium (LANG) dans les mêmes conditions expérimentales.

4. L'action antitoxique de l'hyposulfite vis-à-vis de l'acide cyanacétique et de son éther éthylique est nulle, ce qui confirme notre conclusion énoncée plus haut (p. 182).

5. Si l'hyposulfite, donné dans les conditions susdites, semble impuissant à lever l'intoxication par le benzonitrile, il est par contre très actif vis-à-vis du benzylnitrile, dont une dose 6 fois mortelle peut être rendue inoffensive. Ce fait prouve incontestablement que certains nitriles aromatiques, contrairement à l'affirmation de LANG(1), se comportent vis-à-vis de l'hyposulfite de la même manière que les nitriles gras.

6. Le pouvoir antitoxique de l'hyposulfite vis-à-vis de l'amygdalonitrile est également certain, mais son action dépasse à peine la dose mortelle; la raison paraît en être que la molécule de ce nitrile (133) dont l'action est très rapide, est plus toxique encore que celle du cyanure de potassium (27).

$$2 : 6 :: 27 : 133 :: 1 : x. \text{ D'où } x = \frac{266}{162} = 1,6.$$

En général, plus un nitrile agit rapidement, moins est marqué le pouvoir antitoxique de l'hyposulfite.

*Septembre 1898.*

(1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXIV, p. 256.

LABORATORIO DI FARMACOLOGIA E CHIMICA FISIOLOGICA DELLA R. UNIVERSITA DI TORINO (DIR. PROF. P. GIACOSA).

# Sulla funzione fisiologica dell' acido cianidrico nelle piante. Esperienze sulla germinazione delle mandorle amare e dolci

PER

IL DOTT. MARCO SOAVE.

Dal punto di vista della chimica fisiologica vegetale è ancora un problema oscuro o poco noto quello che riguarda la funzione di molti principii immediati che si trovano nelle piante in quantità maggiore o minore; cosi è di molti alcaloidi, di glucosidi, di acidi speciali o di altre sostanze comprese anche fra quelle meglio studiate nelle loro proprietà chimiche. E alloraquando tali principii sono per se stessi composti velenosi, oppure scomponendosi possono dar luogo a composti velenosi, allora si attribuisce alla loro presenza nelle piante tutto al più il valore di un mezzo di difesa contro certi agenti esterni come insetti, lumache ecc. : la qual asserzione se puo' per avventura essere vera in parte sta più che altro come una semplice confessione, che non è sufficientemente conosciuta la funzione fisiologica loro. Poichè a parte il fatto che alloraquando si parla di mezzi di difesa nelle piante, e non solo mezzi chimici ma anche fisici o di altra natura, si entra in un campo molto vago dove sono difficili esperienze rigorose, è noto che oggidi' si attribuisce alla parola veleno un valore molto relativo e che una sostanza la quale puo' essere micidiale per alcuni animali nocivi, potrebbe invece servire di richiamo per altri non meno dannosi. M. TREUB nel suo lavoro sul Pangium edule che, come avremo occasione di vedere più innanzi, contiene una quantità

notevole di acido cianidrico libero o tut'al più in combimazione estremamente instabile, ha potuto constatare che questa pianta è avidamente ricercata da certe larve che soventi la daneggiano assai.

L'acido cianidrico è appunto un principio la cui storia fisiologica nel regno vegetale è meno nota, quantunque si tratti di un prodotto che è ormai dimostrato essere molto più sparso di quello che non si credesse e in piante appartenenti a famiglie cosi' diverse fra loro come le amigdalee, le asclepiadee, le bixacee, le tiliacee, le sapotacee, le sapindacee, le papilionacee, le convulvulacee, le euforbiacee, le linacee, le aroidee, ecc.

GUARESCHI nel suo Commentario alla Farmacopea Italiana cita una lunga serie di piante nelle quali è contenuto acido cianidrico; e indicazioni più generali si possono trovare nei trattati, come ad esempio in quello di KOBERT (Lehrbuch der Intoxikationen) nei Jahresbericht fur Pharmacie (1895) e nelle memorie speciali.

In questi ultimi anni GRESHOFF ha esaminato nel laboratorio farmacologico del giardino di Buitenzorg numerose piante dell' isola di Giava che forniscono acido cianidrico; trovo' amigdalina nel Gymnena latifolium, nel Pygium parviflorum e latifolium; i risultai più imponenti si ebbero dall' esame del Pangium edule, pianta sparsa nelle isole della Malaisie e nelle Filippine, che costituisce il protipo dello tribù delle Pangiee e classificata generalmente nella famiglia delle Bixacee.

Ad onta del nome specifico di Pangium edule la pianta è sempre stata considerata come velenosa in causa di un principio tossico contenuto in tutte le sue parti. Già RUMPHIUS della pianta « Pangi » dice che la sua scorza polverizzata e gettata nell'acqua uccide i pesci e che i grani uccidono i polli che li mangiano. Riferisce che nell'isola di Bali si constatarano casi di morte nel bestiame che aveva mangiate foglie di Pangium.

Il primo ad avere una nozione giusta sul veleno contenuto nel Pangium è FILET, il quale nel suo catalogo ragionato del piccolo giardino di botanica medica esistente una volta a Batavia, dice che i grani di Pangium mandano, aprendoli, un forte odore di cianogeno. Questo, aggiunto alla volatilità e alla solubilità nell'acqua della sostanza venefica, dice egli, mi fanno credere, che i semi contengono probabilmente del cianogeno (Batavia 1855).

Ma è a GRESHOFF che noi dobbiamo i dati chimici esatti sul principio tossico del Pangium. Egli ha dimostrato la presenza di acido cianidrico in tutta la pianta; nei semi, nelle foglie, nella scorza, nei frutti. Qui' non si tratta della presenza di amigdalina; l'acido cianidrico vi si trova libero o tutt'al più in combinazione estremamente instabile.

Le quantità di acido cianidrico che Greshoff trova nel Pangium sono relativamente molto grandi. Nelle foglie giovani *secche* venne trovato più dell' 1 per cento di acido cianidrico, ad onta delle perdite notevoli per volatilizzazione durante l'essicamento. Un sol piede di Pangium edule conterrebbe secondo Greshoff circa 350 grammi di acido cianidrico. Due frammenti di fusto, aventi, dopo essicazione completa un peso di gr. 10,3, contenevano 113 milligrami di acido cianidrico e cioè 1,098 per cento. Questi due frammenti portavano 36 foglie i cui pezioli secchi pesavano gr. 18,7 e contenevano 127 milligr. di acido cianidrico, ossia 0,697 per cento. I 36 lembi pesavano secchi 110 gr. e contenevano 383 milligr. di acido cianidrico, ossia 0,357 per cento e milligr. 10,7 per foglia.

Infine Greshoff segnala pure le radici delle Pangiee come contenenti delle grandi quantità di acido cianidrico.

Il dott. Melchior Treub direttore del giardino Botanico di Buitenzorg ha pubblicato nel 96 il lavoro a cui ho già fatto cenno, contenente le ricerche microchimiche fisiologiche che egli aveva da diversi anni intrapreso anche per consiglio del Greshoff, sul Pangium edule (1).

E' un lavoro ammirevole sotto ogni punto di vista e del quale io venni a conoscenza quando avevo già avviate le esperienze delle quali è mia intenzione qui riferire. Ad esso puo' ricorrere chi voglia avere maggiori particolari, come sono ricorso io per i dati sopracitati relativi alle ricerche di Greshoff sul Pangium edule, e come vi ricorrerò, nel seguito di questo mio modesto contributo allo studio del ciclo fisiologico dell'acido cianidrico nel regno vegetale.

La maggior parte degli autori è oggidi concorde nell'opinione che l'azoto libero dell'atmosfera non possa, coma tale, essere direttamente assimilato dalle piante. Perchè questo elemento possa entrare in circolo nel mondo organico e servire alla costituzione di quei principi immediati azotati, cosi abbondantemente sparsi nel regno vegetale, esso deve essere fornito alle piante sotto forma di combinazione. Sappiamo pure che la provvista di azoto combinato in natura è relativamente piccola, proporzionatamente ai bisogni. Partendo da questi concetti mi è sempre parso che fosse degno di studio quanto si riferisce al ciclo fisiologico dell'acido cianidrico nel regno vegetale, e che intanto non potesse essere accettata ad esempio l'opinione che si trova soventi ripetuta a proposito della parte che avrebbero nel periodo della germinazione delle mandorle amare i principii che si originano dalla scomposizione dell'amigdalina. L'amigdalina,

(1) Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg, Vol. XIII.

dice il LEHMAMN ad esempio(1), è scomposta durante il periodo di germinazione dall'emulsina; il glucosio serve alla fabbricazione di nuove cellule, l'acido *cianidrico libero* e la benzaldeide ***servono come mezzo di difesa verso gli organismi esterni nocevoli.*** E questo è quanto è ripetuto da molti altri autori se pure è ammesso che una scomposizione in questo senso avvenga. Secondo JORISSEN infatti essa non avverrebbe che in proporzioni minime durante le prime fasi della germinazione e anche in semi dei quali la germinazione sia più avvenzata : il liquido distillato ottenuto non darebbe se non debolmente le reazioni dell'acido cianidrico, mentre puo' essere dimostrato che esiste ancora una forte proporzione di amigdalina non scomposta nelle mandorle e che le radichette germinanti nella sabbia contengono esse stesse amigdalina. I fenomeni di accrescimento non avrebbero dunque per effetto necessario di produrre la scomposizione del glucoside.

Scopo delle mie esperienze era pertanto quello di determinare se durante il periodo germinativo l'amigdalina delle mandorle amare si scomponga nel senso indicato, ossia se si abbia produzione di acido cianidrico libero, in quali proporzioni per rispetto al periodo di germinazione e ai diversi organi della pianta; se questa sostanza, nella cui costituzione entra un elemento cosi' prezioso per gli organismi vegetali, possa essere considerato come semplice mezzo di difesa e del quale la pianta puo' non usufruire lasciando che esso vada perduto nell'atmosfera. Come si comportino di confronto le mandorle dolci, che pure provenendo da piante cosi affini da non potersi botanicamente distinguere, hanno una composizione immediata tanto diversa, mancando in esse l'amigdalina, che si dovrebbe formare seconde osservazioni di JORISSEN nel periodo germinativo.

### MANDORLE AMARE.

Mi sono servito per le mie esperienze di mandorle amare (Amigdalus communis, Prunus amigdalus var. amara) provenienti da BARI, perchè dotate dell'endocarpo osseo molto sottile, il quale mentre permetteva che facile fosse l'imbibizione del seme, poteva pure facilmente essere rotto dal seme germinante. In prove precedenti, mandorle acquistate sul mercato di TORINO con un endocarpo molto spesso e duro, avevano fatto cattiva prova : la germinazione si era iniziata dopo un periodo di tempo molto più lungo e con un per cento di mandorle germinanti molto piccolo.

Le mandorle venivano seminate in vasi ordinarii di terra o in cassette

(1) Citato Jahresb. f. Pharmacognosie, 1885, p. 131.

di legno contenenti della sabbia silicea previamente lavata e seccata all'aria : in alcuni casi soltanto, quando cioè si volevano fare esperienze in ambienti chiusi, come avremo occasione di dire, la sabbia veniva anche sterilizzata coll'arrostimento in modo da distruggere i germi di quelle muffe o di quegli altri parassiti che avrebbero potuto danneggiare le giovani piante. Prima di essere seminate le mandorle erano lasciate a bagno nell'acqua per 24 o 36 ore, e i vasi erano abbandonati, tenendo umida la sabbia, o nelle camere del laboratorio o nelle serre del nostro orto botanico in modo da avere sempre condizioni di temperatura convenienti alla germinazione. In genere il fenomeno si iniziava abbastanza rapidamente e dopo pochi giorni era manifestamente visibile che l'embrione era entrato in movimento : dopo 30 giorni circa il guscio di tutte o quasi tutte le mandorle si era aperto, e in alcune si era sviluppata la radice in modo da raggiungere la lunghezza di qualche centimetro, con o senza radichette secondarie, era visibile il fusticino differenziato e le piccole foglioline.

Per la ricerca dell' acido cianidrico libero si sottoponeva il materiale in esame, alla distillazione in corrente di vapor d'acqua; e per evitare ogni possibile causa di errore si faceva funzionare per qualche minuto l'apparecchio in bianco, si apriva il palloncino a cui arrivava il vapor d'acqua, vi si gettava dentro la sostanza, chiudendo e riattaccando al refrigerante il più rapidamente possibile. La canna del refrigerante si faceva spesso pescare in un po d'acqua leggermente alcalina per potassa caustica, messa previamente nel palloncino collettore opportunamente raffreddato.

Sul distillato si praticava tosto la reazione del bleu di Prussia, oppure quella di Liebig o di Vortmann quando la prima fosse riuscita negativa.

Ecco alcune delle esperienze quali sono segnate sui miei quaderni :

*25 Marzo.* — Tre mandorle amare private del guscio sono finamente tagliuzzate e gettate, operando rapidamente, nel palloncino dell' apparecchio distillatore in funzione. Nel distillato non si ha traccia di acido cianidrico.

Tre delle stesse mandorle si soppestano con un po' d'acqua : si lascia il tutto a se per mezz'ora e si distilla : il liquido che si ottiene dà intensissima reazione del bleu di Prussia.

Tre mandorle messe a germinare nelle serre dell'orto botanico dal 12 marzo, private del guscio mostrano semi turgidi, l'embrione rigonfio : le primissime porzioni di distillato danno una colorazione assai lieve di bleu di Prussia, colorazione che è meglio percettibile dopo qualche tempo da che la reazione è praticata. Positiva la reazione Liebig praticata pure sulle primissime porzioni di liquido.

Mandorle germinanti dal 25 febbraio : le radici sono ben sviluppate,

lunghe due o tre centimetri, sviluppati pure i caulicini e le foglioline embrionali. Si separano queste parti dai cotiledoni che si mostrano ancora molto rigonfi e si sottopongono le due porzioni a distillazione separatamente. Si opera su quattro mandorle. Il distillato proveniente dai fusticini colle radici da evidente la reazione del bleu di Prussia, ma non si ha formazione di precipitato; quello proveniente dai cotiledoni da una reazione intensissima con formazione di un vero precipitato; questo liquido precipita pure in bianco con nitrato d'argento, e il precipitato è solubile nell'acido nitrico a caldo. La distillazione è fatta contemporaneamente e in due apparecchi distinti.

Esperienze di questa natura e che io vado ripetendo di giorno in giorno mentre confermano i risultati riferiti, dimostrano che la quantità di acido cianidrico libero va via aumentando col crescere delle giovani piante.

*4 Aprile.* — Sono delle mandorle germinanti dal 25 Febbraio : le pianticine sono rigogliose, molto ben sviluppate, la radice misura 10 cent. di lunghezza e più, il fusticino che è munito di numerose foglioline misura 5 o 6 cent. : i cotiledoni sono turgidi ancora e vengono staccati dalle piante che, rotte per metà, sono gettate rapidamente nell'apparecchio distillatore. Si opera su due pianticelle. Le prime porzioni di distillato danno *intensa* la reazione del bleu di Prussia. Si continua a distillare fino a che non passa più traccia di acido cianidrico, si sospende l'operazione e doppo raffreddamento si aggiunge nel palloncino contenente le pianticelle un pezzo di mandorla *dolce* soppesta con acqua. Dopo pochi minuti è già evidente l'odore caratteristico di mandorle amare e dal distillato si ha intensissima la reazione del bleu di Prussia.

Un comportamento identico si ha operando sui cotiledoni ancora turgidi e staccati dalle piante sottoposte all'esame.

*25 Aprile.* — Sono sempre le mandorle germinanti del 25 Febbraio. Il fusticino con numerose foglioline verdi misura in alcune piante 35 cent. e più; le radice principale coperta di numerose radici secondarie misura fino a 20 cent. Nelle piante più avanzate i cotiledoni hanno perduto il loro aspetto ordinario, acquistando apparenza fogliare perchè sono diventati verdi, con consistenza pergamenacea, con sapore amaro marcato. Separati, tagliuzzati e distillati rapidamente i cotiledoni cosi' modificati di alcune di queste piante danno un liquido che fornice la reazione del bleu di Prussia appena percettibile se si opera sulle primissime porzioni : se si lascia raffreddare il palloncino, si aggiunge un pezzetto di mandorla dolce soppesta e si abbandona a sè per qualche ora, distillando si ottiene un

liquido in cui la reazione del bleu di Prussia si manifesta intensissima con produzione di un vero precipitato.

I fusticini, le radici principali danno nei loro distillati rispettivamente intensissima la reazione del bleu di Prussia : le radichette secondarie, bianche, filamentose, lunghe e che avvolgono tutta quanta la radice principale danno un distillato dove *non è* possibile svelare la presenza di acido cianidrico.

Dopo di avere accertato, mediante le esperienze riferite e quelle altre numerosissime che per brevità tralascio, che nelle mandorle amare le quali non contengono acido cianidrico libero, appena si inizia il fenomeno della germinazione compare tale principio, che va via via aumentando notevolmente col progredire dello sviluppo della pianta, era da stabilirse se un composto azotato, anche se per se stesso estremamente volatile, come è l'acido cianidrico, fosse lasciato sfuggire e abbandonato nell'atmosfera in un periodo di sviluppo nel quale le piante sono maggiormente chiamate a far tesore di tutte le loro riserve.

L'esperienza veniva fatta con diversi apparecchi. In un largo recipiente rotondo, di vetro, del diametro di 35 cent., alto 10 cent., simile ad un comune cristallizzatore, riempito di sabbia silicea lavata e sterilizzata venivano messe a germinare il maggior numero possibile di mandorle, da 50 a 60. Questo recipiente era munito di un orlo appianato e arrotato e sul quale veniva ad adattarsi una grossa campana di vetro dell'altezza di 40 cent. e assicurata al vaso inferiore mediante mastice. La campana portava alla parte superiore due aperture per una delle quali chiusa con tappo a doppio foro passavano due tubi di vetro ricurvi, di cui uno discendeva in basso fino a toccare quasi la sabbia, l'altro attraversando il tappo veniva ad affiorare alla parte interna del medesimo. Per la seconda apertura passava un imbuto a rubinetto che permetteva di innafiare la sabbia quando lo si giudicava opportuno : l'acqua impiegata era previamente bollita. Cosi disposte le cose, mediante un aspiratore si faceva passare attraverso all'apparecchio una lenta corrente di aria che era obbligata a filtrare attraverso a cotone e a gorgogliare attraverso ad una boccia d'acqua prima di arrivare alla campana. Sono necessarie queste precauzioni per impedire l'entrata di germi di muffe o di altri parassiti che potrebbero invadendo le giovani piante compromettere l'esito dell'esperienza. L'aria che usciva dall'apparecchio per il tubo ricurvo si faceva gorgogliare attraverso a due boccie contenenti della potassa caustica al 20 %.

L'esperienza cosi preparata veniva continuata finchè si credeva

conveniente : nei primi tempi la corrente d'aria era fatta passare per qualche ora al giorno, e più tardi si manteneva continua. Tutto l'apparecchio era situato nel vano di una finestra verso mezzodi' in modo da essere bene illuminato. La potassa delle boccie veniva sostituita ogni tanto con soluzione nuova.

Una delle prove meglio riuscita incominciata il 28 Febbraio si prolungo' fino al 15 giugno.

Quasi tutte le mandorle (erano circa 50) hanno germinato, le pianticine si sono sviluppate regolarmente e al finire dell'esperienza una gran parte aveva raggiunta la sommità della campana, tutta piena di una rigogliosa vegetazione. I cotiledoni delle piante più sviluppate erano vuoti o quasi, inverditi : nelle altre meno sviluppate si mostravano ancora sufficientemente turgidi.

I saggi parziali fatti sulle diverse porzioni di potassa durante il corso dell'operazione e quello finale hanno dimostrata l'assenza assoluta di ogni traccia di acido cianidrico.

Risultato identico lo si ebbe in un'altra prova che si dovette interrompere alloraquando le pianticelle erano giunte all'altezza di 5 a 10 cent., poichè non essendo state prese le precauzioni alle quali ho sopro accennato, esse erano state invase da una abbondante vegetazione di muffe con conseguente deperimento rapido e notevole.

Numerose altre esperienze e sempre dirette allo stesso scopo erano contemporaneamente fatte con apparecchi minori di altra forma. Si prestano bene, per esempio, delle larghe canne di vetro, dove è possibile disporre orizzontalmente anche un numero grande di semi : naturalmente qui l'esperienza va interrota quando le pianticelle hanno raggiunto appena pochi centimetri di lunghezza. E cosi in diverse prove, mi sono servito con buon risultato di tubi simili a quelli che si impiegano nelle esperienze scolastiche per la dimostrazione dei fenomeni di respirazione nei semi germinati.

Il risultato è stato constantemente negativo, anche in quei casi nei quali, prima della fine dell'esperienza, ho potuto praticare il vuoto nell'apparecchio medesimo, facendo gorgogliare i gas attraverso alle boccie a potassa.

Prima di porre termine all'esposizione di questa prima serie di esperienze sulle mandorle amare accennerò' ai tentativi fatti per riconoscere e dimostrare la presenza dell'acido cianidrico libero nei tessuti delle mandorle germinanti. Il metodo microchimico seguito è quello descritto e impiegato dal TREUB con si felice risultato nel suo lavoro sul Pangium

edule, quello del bleu di Prussia. Le numerose sezioni da me fatte coi diversi organi della pianta in diversi periodi del suo sviluppo hanno dato all'esame risultato sempre negativo. E' da notarsi che le quantità di acido cianidrico che si trovano nel Pangium edule sono relativamente di molto superiori e non paragonabili a quelle che si formano nelle mandorle amare nel loro periodo germinativo.

MANDORLE DOLCI.

A differenza delle mandorle amare quelle dolci, non contengono, come è noto, traccia di amigdalina; e una diversità tanto sostanziale nella loro composizione chimica è tanto più sorprendente in quantochè dal punto di vista botanico le due piante dalle quali tali semi originano, non si differenziano punto, appartengono alla medesima specie e vengono distinte in Prunus amigdalus, varietà amare e dolce, basandosi unicamente sul sapore del seme.

Le mandorle provenivano esse pure da Bari : prima di mitterle a germinare mi son assicurato che distillandole direttamente ovvero dopo fermentazione per 24 ore non si aveva nel distillato traccia di acido cianidrico.

Ecco alcune delle esperienze :

Mandorle in germinazione da 32 giorni. Due soltanto si sono sviluppate in modo che il giovane germoglio è fuori della sabbia. Un fusticino misura 3 cent. di lunghezza con radice di 8 cent.; l'altro fusticino misura 4 cent. con radice di 10 cent.

Staccate dai cotiledoni esse pesano gr. 1,8; si distillano rapidamente gettandole nel palloncino dell'apparecchio in funzione da qualche minuto. Nelle prime porzioni del distillato si ha una colorazione intensa di bleu di Prussia e col riposo si deposita in fondo al tubo nel quale si è fatta la reazione un tenue precipitato.

I quattro cotiledoni ancora turgidi sottoposti allo stesso trattamento *non danno traccia di reazione.*

Mandorle messe a germinare da 50 giorni; alcune hanno raggiunto un grado di sviluppo notevole e il loro fusticino misura 25 cent. in lunghezza : nelle meno progredite il fusto misura appena 5 cent. Vi sono mandorle in cui la germinazione è appena iniziata e dove la radichetta ha incominciato a rompere l'endocarpo e altre infine ben conservate, turgide, embrione evidentemente sano e vivo, ma nelle quali non sono ancora manifesti i veri caratteri della germinazione.

Queste ultime sottoposte a distillazione direttamente oppure dopo di

averle triturate con acqua e lasciate fermentare per 24 ore non danno traccia di acido cianidrico.

Quelle nelle quali la germinazione è appena iniziata danno delle traccie leggermente sensibili di acido cianidrico; la reazione è alquanto più sensibile per lo stesso peso di mandorle se si lasciano fermentare per qualche ora.

Delle mandorle già in via di sviluppo notevole, in numero di 16, si separa nettamente dal resto la porzione costituita dai fusticini : pesa 20 grammi. Distillata rapidamente nel solito modo fornisce un liquido dove la colorazione del bleu di Prussia è intensa non solo, ma si deposita dopo qualche tempo in fondo al tubo un lieve precipitato.

Se dopo raffreddamento nel palloncino contenente la sostanza in esame si aggiunge un po' di emulsina o più precisamente un pezzo di mandorla dolce soppesta, si chiude e si lascia a se per qualche ora, il distillato che si ottienne dà, più che una colorazione intensa di bleu di Prussia, un vero precipitato.

Posso qui aggiungere che avendo dosato l'acido cianidrico contenuto nel distillato mediante il processo volumetrico del nitrato d'argento, impiegato pure per altre determinazioni analoghe come diro' in seguito, è risultato che il liquido conteneva grammi 0,0075 di acido cianidrico e cioè 0,0378 per cento di sostanza esaminata verde.

Di alcune pianticine separo nettamente la parte verde costituita dalle foglioline, dalla parte assile bianca facendone due porzioni di cinque grammi caduna : la reazione sul distillato ridotto a volume uguale si dimostra ugualmente intensa.

La parte radicale anch'essa nettamente separata (pesa dieci grammi) per distillazione diretta non fornisce traccia di acido cianidrico : se dopo raffreddamento si aggiunge anche qui un po' di emulsina, si lascia a se per qualche ora e si distilla di nuovo, allora il distillato che si ottiene fornisce esso pure colorazione marcata, con deposito di un vero precipitate di bleu di Prussia.

I cotoledoni delle stesse piante, già molto ridotti in volume alcuni, duri, coriacei con tendenza ad assumere il vero aspetto di foglie cotiledonari, ne'per distillazione diretta nè in seguito a fermentazione forniscono traccia alcuna di acido cianidrico.

I resultati sopra descritti sono stati confermati da numerose altre determinazioni e sopra campioni diversi di pianti, in diverso periodo di sviluppo, per cui rimangono assodati i seguenti fatti : Nel periodo germinativo delle mandorle dolci finchè continua lo stato di quiescenza

dell'embrione, ad onta della imbibizione dei tessuti, non si ha traccia di acido cianidrico preformato o di sostanza capace di generare per fermentazione dell'acido cianidrico : questo compare appena la germinazione si inizia.

La parte aerea della pianta, il fusto, contiene sempre dell'acido cianidrico preformato in quantità relativamente notevole, non solo, ma una sostanza la quale per fermentazione coll'emulsina dà luogo ad acido cianidrico.

La parte sotterranea, la radice, non contiene acido cianidrico preformato, ma una sostanza che per fermentazione coll'emulsina produce acido cianidrico.

I cotiledoni non contengono acido cianidrico preformato nè la sostanza capace di fornirlo per fermentazione.

### Mandorle dolci ed amare eziolate.

E' noto come in molti casi i fenomeni chimici che si compiono nei semi germinanti siano molto diversi a seconda che le piante sono fatte crescere alla luce ovvero allo scuro.

Ho fatto germinare delle mandorle dolci e amare mantenendole per tutto il periodo di sviluppo in locale completamente oscuro. Al momento della esperienza alcuni semi non mostrano che la radice abbastanza sviluppata : la magior parte pero' anche il fusticino lungo da 10 a 20 cent., munito di un piccolo ciuffetto di foglie alla estremità, completamente gialle.

I fusticini delle mandorle dolci, gr. 18, danno un distillato di cui la prime porzioni forniscono intensissima la reazione del bleu di Prussia con separazione quasi istantanea di un vero precipitato : dopo raffreddamento del palloncino coll'aggiunta di un po' di emulsina si ha, trascorse alcune ore, un distillato dove la reazione è pure intensissima.

Le radici (grammi 12) danno anch'esse, a differenza di quanto abbiamo visto succedere nelle piante cresciute alla luce, un distillato con intensa reazione di bleu di Prussia e separazione di un vero precipitato : anch'esse per fermentazione con emulsina danno luogo a nuovo acido cianidrico.

I cotiledoni (gr. 15) riconfermano quanto era già stato constatato nelle piante non eziolate; non danno traccia di acido cianidrico, nè prima nè dopo fermentazione.

Per le mandorle amare non esiste differenza da quanto venne trovato in quelle cresciute alla luce : tutte le parti, compresi i cotiledoni, hanno acido cianidrico preformato in quantità relativamente notevole e così pure

danno luogo a nuovo acido cianidrico quando queste stesse parti siano poste a fermentare con emulsina.

Studiata cosi' nelle sue linee generali la presenza costante dell'acido cianidrico nei giovani germogli di mandorle amare e dolci, la sua distribuzione nei diversi organi nel primo periodo di sviluppo della pianta, occorreva oramai un'analisi più precisa del fenomeno per confermare l'ipotesi, abbastanza giustificata, che l'acido cianidrico non debba avere il significato di un mezzo di difesa soltanto ma che esso rappresenti una sostanza a spese delle quali la pianta fabbricherà in seguito i principi immediati del suo organismo, una forma colla quale essa puo' usufruire delle sue riserve azotate.

Per ora io debbo limitarmi alla espozione di una serie di determinazioni preliminari tendenti a tale scopo : spero in seguito di poter continuare a completare le mie ricerche, estendendole anche ad altri semi contenenti materiali di riserva, i quali, è molto probabile, che nel periodo di germinazione diano fra i prodotti di loro trasformazione anche acido cianidrico.

MANDORLE AMARE.

*28 Marzo.* — Raccolgo delle mandorle amare messe a germinare nello stesso vaso il 1 febbraio. Fatta eccezione di alcune poche che non hanno dato ancora segno di vita, si possono fare delle altre, due gruppi a seconda lo stadio di sviluppo. Quelle meno svillupate hanno una radice di 20 a 30 cent., fusticino da 3 a 10 cent. senza foglie verdi, con qualche rara fogliolina all'estremità dell'apice, di colorazione biancastra o giallognola : quelle più sviluppate hanno radice da 30 a 40 cent. e numerose radichette secondarie laterali, fusticino di 12 a 20 cent. e numerose foglie verdi. Di ogni gruppo fanno parte 18 pianticine, delle quali 9, scelte in modo da avere rappresentato la metà del peso totale, sono impiegate alla determinazione della materia secca a 100°—110° : le altre 9 sono impiegate alla determinazione dell'acido cianidrico preformato e di quello che poteva originarsi per fermentazione.

La determinazione dell'acido cianidrico è fatta seguendo esattamente il metodo volumetrico prescritto dalla nostra Farmacopea ufficiale per l'acqua di mandorle amare, mediante la soluzione decimo normale di nitrato d'argento.

Ho potuto verificare l'esattezza del metodo e la sensibilità del cromato potassico come indicatore, facendo di confronto sopra un'acqua di

mandorle amare a ciò preparata la determinazione col metodo delle pesate, precipitando cioè l'acido cianidrico con nitrato d'argento e calcinando poscia il cianuro d'argento ottenuto.

Ecco i risultati :

Mandorle germinanti del 1° stadio. Le 9 pianticine pesano gr. 29, per distillazione diretta forniscono un liquido in cui si dosa acido cianidrico preformato gr. 0,0036. Dopo raffreddamento del palloncino si aggiunge dell'emulsina, mandorla dolce soppesta, si chiude, si abbandona a se per 24 ore et si distilla; nel liquido ottenuto si dosa acido cianidrico, che chiamerò di fermentazione gr. 0,0162.

Le altre 9 pianticine che pesano pure 29 gr. sono triturate e seccate a 100—110° fino a peso costante : si ottiene di materia secca gr. 7,67. Questa materia secca è utilizzata per controllare la determinazione dell'acido cianidrico per fermentazione come è detto sopra : si addiziona anche qui' la sostanza messa nell'acqua, di una mandorla dolce soppesta, si distilla dopo 12 ore e si dosa : si trova acido cianidrico 0,0156.

Mandorle germinanti del 2° stadio : 9 piante pesano gr. 43. Danno acido cianidrico preformato gr. 0,0061, acido cianidrico per fermentazione gr. 0,0225 : altre 9 pianticine del peso anch'esse di gr. 43 danno gr. 8,16 di sostanza secca.

Mandorle non germinanti. Nove delle stesse mandorle che servono alle esperienze e messe a parte da quelle fatte germinare, pesano gr. 9 : si triturano finamente, si aggiunge dell'acqua in quantità conveniente e si lasciano fermentare per 24 ore in palloncino chiuso. Nel distillato si dosa acido cianidrico gr. 0,018; aggiungendo dopo raffreddamento del liquido del palloncino distillatore una mandorla dolce soppesta, lasciando fermentare per altre 12 ore e ridistillando, nel distillato non vi ha più acido cianidrico in quantità dosabile : solo dalle primissisme porzioni e' possibile ottenere una reazione debolissima di bleu di Prussia : la stessa prova fatta sulle mandorle germinanti non mi aveva dato traccia alcuna di reazione.

La quantità di acido cianidrico trovata corrisponde perfettamente a quanto ha trovato GUARESCHI in altre circostanze : distillando 3 chilogrammi di mandorle dopo una macerazione di 12 ore egli aveva trovato gr. 6,940 di acido cianidrico.

Nove delle stesse mandorle che pesavano anche qui' gr. 9 hanno dato gr. 7,18 di materia secca.

Per la determinazione della materia secca ho scelto in questo caso, come nei precedenti, sempre la stessa quantità di sostanza nella quale si facevano i dosaggi, affinchè i risultati ottenuti fossero più facilmente e più

esattamente comparabili, come ho fatto nella tavola seguente nella quale le cifre ottenute nelle singole esperienze sono riportate a 100.

| | ACIDO CIANIDRICO PER 100 | | | | | | Amygdalina corrispondente a 100 di materia secca. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MATERIA VERDE | | | MATERIA SECCA | | | |
| | preformato | di fermentazione | totale | preformato | di fermentazione | totale | |
| Mandorle non germinanti | | 0,20 | 0,20 | | 0,25 | 0,25 | 4,19 |
| Mandorle germinanti 1° stadio | 0,012 | 0,055 | 0,067 | 0,046 | 0,211 | 0,257 | 4,34 |
| Mandorle germinanti 2° stadio | 0,014 | 0,052 | 0,066 | 0,074 | 0,257 | 0,349 | 5,90 |

Risulta dunque notevole il fatto che l'acido cianidrico preformato si trova distributo nei tessuti della pianta viva, nelle stesse e precise proporzioni, nei due diversi stadii di sviluppo della pianta : altrettanto si dica dell'acido cianidrico che può, avere origine per fermentazione. Le cose cambiano invece se si considera il rapporta colla materia secca : qui' la proporzione aumenta in modo relativamente sensibile col maggior sviluppo della pianta.

E se noi calcoliamo la quantità di amigdalina corrispondente all'acido cianidrico totale trovato, in rapporto alla materia secca, vediamo anche qui' una progressione notevole dai semi non germinanti alle piante più sviluppate. Il calcolo è fatto in base alla equazione chimica secondo la quale l'amigdalina si scompone :

$$\frac{C_{20}H_{27}NO_{11}}{457} + H_2O = 2C_6H_{12}O_6 + C_6H_5COH + \frac{HCN}{27}$$

senza tener conto della sua acqua di cristallizazione.

Ora questo aumento notevole nelle piante, di azoto sotto forma di acido cianidrico libero o combinato, dimostra che la pianta in questo periodo della vita per usufruire delle sue riserve azotate, costituite precipuamente di materia albuminoidea, fabbrica da questa, almeno in parte, della nuova amigdalina o un prodotto analogo che scomponendosi darà luogo ad acido cianidrico.

Il fatto non sarebbe possibile spiegarlo altrimenti, poichè le piante hanno germinato e sono cresciute in sabbia silicea non contenente traccia di composto azotato come non ne conteneva l'acqua che ha servito all'innaffiamento, le poche volte che fu reputato necessario; a meno che non si voglia ammettere che le giovani piante abbiano avuto il potere prodigioso di assimilare azoto direttamente dall'atmosfera.

MANDORLE DOLCI.

Non credo inutile e fuori di proposito riferire qui' i risultati ottenuti in esperienze fatte per determinare i rapporti esistenti fra l'azoto totale e l'azoto albuminoide, in diversi periodo di sviluppo delle mandorle dolci. Le determinazioni di azoto sono fatte secondo il processo di Kjeldahl, seguendo per la separazione dell'azoto delle sostanze proteiche il metodo di Stutzer, di precipitazione coll'idrossido di rame.

La sostanza sulla quale si operava era seccata a 100°—110° e sgrassata con etere allo scopo di ottenere un tutto omogeneo finamente polverizzato : sull'estratto etereo erano fatti i saggi opportuni per accertare non vi fosse traccia di azoto. Le mandorle messe a germinare nello stesso vaso sono state divise in quattro gruppi a seconda del grado di sviluppo.

1° Gruppo. — Mandorle in buono stato, rigonfie coll'embrione che ancenna appena a mettersi in movimento.

Azoto totale. — Si opera sopra gr. 1,515 di sostanza che dà gr. 0,1143 di azoto e per cento gr. 7,4.

Azoto sostanze proteiche. — Si opera sopra gr. 1,085 di sostanza che dà gr. 0,078 di azoto e per cento 7,22.

2° Gruppo. — Fusticino da 3 a 5 centimetri con ciuffetto appena visibile di foglie lievemente colorate in verdognolo, radice molto allungata di 20 centimetri in media, priva o quasi di radici secondarie; cotiledoni molto rigonfii. gr. 1,251 di sostanza danno gr. 0,060 di azoto totale e per cento gr. 4,87. Gr. 2,066 di sostanza danno 0,072 di azoto albuminoideo e per cento gr. 3,52.

3° Gruppo. — Fusticino da 10 a 15 cent., radici di 20 a 25 cent. con numerose foglie alcune già bene sviluppate. Gr. 0,834 di sostanza danno gr. 0,049 di azoto albuminoideo e per cento gr. 2,98.

4° Gruppo. — Fusto di 30 cent. in media, con foglie ben sviluppate, radici secondarie abbondantissime. Gr. 0,888 di sostanza danno gr. 0,036 di azoto totale e per cento 4,05. Gr. 2,184 di sostanza danno gr. 0,030 di azoto albuminoideo e per cento 1,41.

Ora facendo il rapporto fra l'azoto delle sostanze proteiche e l'azoto totale si vede che, a partire dal primo periodo nel quale la germinazione non era peranco iniziata e quando per conseguenza l'azoto era quasi totalmente di sostanza proteica, tale rapporto va discendo in proporzione notevole col progredire dello sviluppo. Si ha infatti :

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1° | periodo, | azoto | sostanze | proteiche | = 97,56 % | dell'azoto | totale. |
| 2° | » | » | » | » | = 72,27 % | » | » |
| 3° | » | » | » | » | = 68,34 % | » | » |

4° periodo, azoto sostanze proteiche = 34,81 % dell'azoto totale.

E a voler tenere conto anche solamente dei risultati che si riferiscono al primo periodo e al secondo nel quale la germinazione è appena iniziata, si vede che la quantità di sostanza albuminoide che ha dovuto modificarsi assumendo la forma nuova nella quale poter emigrare verso i luoghi del bisogno, rappresenta più del 25 per cento dell'azoto totale.

Le determinazioni di acido cianidrico per fermentazione, che mi propongo di fare su questo stesso materiale, potranno darmi indicazioni sul rapporto fra le quantità di acido cianidrico che puo' pigliare origine e tale azoto cosi modificato.

Qui è necessario osservare pero' che nel precipitato coll'ossido idrato di rame non è completamente separata la materia proteica che abbia assunto la forma di peptone. Sarebbe stato desiderabile poter impiegare un metodo, per mezzo del quale fosse determinato tutto l'azoto proteico compreso quelle sotto forma di peptone : ma un tale processo non è finora conosciuto. Questa causa d'errore è tuttavia affatto trascurabile, poichè le quantità di peptone che finora sono state riscontrate nei semi germinanti sono estremamente piccole. Infatti in una delle determinazioni, il liquido dal quale era stato separato per filtrazione il precipitato prodotto dall'ossido idrato di rame, e dal quale era stato pure allontanato mediante l'acido solfidrico il rame in presenza, ha data con l'acido tannico appena un leggerissimo intorbidamento, dimostrando di contenere appena traccie di peptone.

Inoltre i liquidi dai quali era stato separato il precipitato prodotto dall'ossido idrato di rame veniva trattato nelle singole determinazioni con acido fosfovolframico, allo scopo di determinare sul precipitato che si fosse ottenuto, il contenuto in azoto. Soltanto nel liquido proveniente dal 4° gruppo si pote' ottenere un precipitato abbastanza sensibile e sul quale operare il dosaggio di azoto : si ebbe cosi da gr. 2,164 di sostanza gr. 0,007 di azoto e cioè 0,32 per cento e 8 per cento dell'azoto totale. Le mie ricerche non mi hanno ancora permesso di decidere se questa quantità relativamente piccola d'azoto sia da ascriversi tutta ad albumose e peptoni precipitati dall'acido fosfovolframico o a basi organiche o a qualche altro principio.

Lo studio delle metamorfosi delle sostanze azotate dei semi, durante il periodo germinativo ha dimostrato infatti, grazie specialmente agli ammiravoli lavori di E. SCHULZE in questi ultimi anni, che le sostanze nuove che si originano possono essere molte. Mentre in molti casi si puo' ricavare asparagina, in altri si ha glutamina, in altri arginina in quantità

notevole o vernina : l'allantoina, la xantina, l'ipoxantina; la guanina, la phenylamina, la leucina, la tyrosina, l'acido amidovalerianico, etc. sono altrettanti prodotti riscontrati pure nei semi germinanti.

Le mie ulteriori ricerche mentre mi permetteranno di meglio determinare le condizioni di formazione dell'amigdalina tanto nelle mandorle dolci che amare, dimostreranno se e quale altra sostanza possa pigliare nascimento.

M. Treub come conseguenza la più semplice e la più naturale del suo magistrale lavoro ammette che « nel Pangium edule, l'acido cianidrico è il primo prodotto dell'assimilazione dell'azote che sia possibile riconoscere » senza tuttavia voler affermare od escludere che non soltanto esso sia il primo prodotto riconoscibile dell'assimilazione dell'azoto, ma nello stesso tempo il primo composto azotato che si forma in tale assimilazione. Non credo che sia stato finora accertato da altri e in altre piante un fatto simile, di cosi alta importanza per la chimica vegetale, siccome quello che si attacca direttamente al grande problema della sintesi delle materie albuminoidi.

Che l'acido cianidrico possa essere considerato come il punto di partenza della sintesi complessa per la quale le piante arrivano alla formazione delle materie albuminoidi è precisamente cio che afferma la nota teoria di A. Gautier, esposta da lui fin dal 1872 e riportata anche nel suo ultimo trattato di chimica biologica, teoria che egli stesso ed altri hanno cercato di confortare con prove indirette.

Secondo A. Gautier l'acido nitrico dei nitrati contenuto nei tessuti delle piante sarebbe ridotto in acido cianidrico dall'aldeide formica nascente, che è un prodotto costante della decomposizione dell'acido carbonico per opera della luce. Questo acido cianidrico costituirebbe il nucleo a cui si attaccherebbero dei gruppi quali OH, CO, e specialmente dei radicali aldeidici, in modo da constituire la mollecola complessa dell'albumina.

Non volendo entrare in maggiori considerazioni teoretiche mi pare tuttavia che debba avere un grande peso l'ipotesi di Treub, secondo la quale l'HCN potrebbe essere il primo corpo che prende origine in seguito all'assimilazione dell'azoto in un grande numero di piante, ma che presso la maggior parte di esse la sintesi continui immediatamente il suo cammino, per non arrestarsi temporaneamente che a un composto nel quale il gruppo HCN è troppo intimamente legato di già ad altri gruppi perchè sia possibile riconoscerlo coi nostri reattivi.

Certo saranno oltremodo interessanti tutti i fatti e le osservazioni che potranno venire accertati intorno a questo punto.

L'HCN del *Pangium edule* è un prodotto diretto della sintesi dell'azoto, e come suol dirsi, la sostanza plastica della materie albuminoidi : l'HCN delle mandorle amare e dolci nel loro periodo germinativo è prodotto di decomposizione di materiali di riserva, cio' che non impedisce che egli possa tuttavia servire alla ricostituzione di materie albuminoidi, come avviene per l'asparagina. I due fatti. secondo TREUB, vanno tenuti ben distinti e a ragione.

Ad ogni modo io penso che le osservazioni e i fatti da me precisati, come le ricerche che verrano in seguito, non siano per essere affatto inutili per la conoscenza della funzione fisiologica di un principio che non puo' più essere considerato come sostanza indifferente o alla quale sia riserbato il solo ufficio di mezzo di difesa.

*Torino, Agosto 1898.*

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUTE DER UNIVERSITÄT ZU BONN.
(DIR. PROF. C. BINZ.)

# Ist die unversehrte Haut durchgängig für Arsenik?

VON

Dr GUSTAV VOGEL.

Ob und welche gelösten Stoffe von der unversehrten Haut aufgenommen werden, ist eine Frage von wissenschaftlicher und praktischer Bedeutung. Zahlreiche Versuche wurden darüber angestellt. Ich erwähne hier nur die von RÖHRIG(1), FLEISCHER(2), ROZSAHEGYI(3) und die von A. PETERS(4). Die beiden ersten Autoren verneinen den Uebergang irgendeines der nichtflüchtigen Salze, sogar des so leicht löslichen und diffusibeln Jodkaliums; und wenn auch für dieses Salz durch die aus dem hiesigen Pharmakologischen Institute hervorgegangene eingehende Arbeit von A. PETERS erwiesen ist, dass davon beim Einreiben einer Jodkaliumsalbe dennoch eine geringe Menge in den Kreislauf übergeht, die aber meistens erst nach Veraschen des Harns nachgewiesen werden kann, so muss doch nach allem der Satz gelten : Die unverletzte Haut lässt von gelösten Körpern nur solche eindringen und in den Kreislauf übergehen, die flüchtig sind.

Das scheint widerlegt zu werden durch eine Vergiftungsgeschichte, die vor einigen Monaten die Runde durch die medicinische Literatur

(1) Archiv für Heilkunde, 1872, XIII, S. 341.

(2) Habilitationsschrift. Erlangen, 1877.

(3) Referirt im Jahresber. f. Pharmacie. Göttingen, 1878, S. 564.

(4) *Ueber die Resorption von Jodkalium in Salbenform.* Centralbl. f. klinische Medicin. Leipzig, 1890, S. 973.

gemacht hat. Das Original (MÜLLER, Württemberg. Corr. Bl. 1897) steht mir leider nicht zu gebote und ich benutze deshalb die ausführlichste Wiedergabe, die ich finden konnte; es ist die von A. HEFFTER in seinem Bericht über die toxikologischen Arbeiten des Jahres 1895—1897 in SCHMIDT's Jahrbüchern, Bd. 257, S. 96. Dort steht :

« Die 15jährige Tochter eines Tierarztes bereitete sich zur Vertilgung der Kopfläuse eine ca. 1/2procentige Arseniklösung, wozu sie den Arsenik aus dem Arzneikasten ihres Vaters entnahm. Mit dieser Flüssigkeit wusch sie sich den Kopf. Kurze Zeit nachher (1) wurde sie unwohl, klagte über Kopfweh, Schwindel, Uebelkeit, metallischen Geschmack, Brechreiz, Druckempfindlickeit in der Lebergegend. Die Gesichtsfarbe war bleich, der Puls beschleunigt.

» Trotz rasch angewandter Gegenmittel wurde der Zustand zusehends schlechter, das Bewusstsein schwand, leichte Zuckungen stellten sich ein, der Puls wurde klein und fadenförmig, das Atmen erschwert, die Haut kalt und cyanotisch, kalte klebrige Schweisse traten auf. Unter Delirien folgte nach einstündigem Kranksein der Tod. Eine Section konnte leider nicht gemacht werden.

» Das Mädchen hatte, so lange es noch bei klarem Bewusstsein war, die bestimmte Aussage gemacht, dass es nichts von der Lösung verschluckt habe. Die Kopfhaut erwies sich bei der Inspection durch den Arzt als völlig frei von Ekzem und Kratzwunden, so dass es sich in diesem Falle nur um Resorption einer grösseren Menge der wässrigen Arseniklösung durch die Kopfhaut und vielleicht durch das sehr üppige Haupthaar handeln kann. Auch abgesehen davon weicht der Fall von der Norm insofern ab, als die gastrischen Symptome nur angedeutet sind, das Centralnervensystem sich dagegen stark beteilig zeigt (Convulsionen, Delirien). »

Soweit das Referat über den Fall. Leider ist nicht mitgeteilt, wie viel von der Lösung das Mädchen verbraucht hat und ob die Haut der Hände unversehrt war. Immerhin aber wäre diese schnelle Resorption des gelösten Arseniks durch die, wie ausdrücklich hervorgehoben wird, unversehrte Kopfhaut und die daraus hervorgehende geradezu rapide verlaufende Vergiftung seltsam und unwahrscheinlich. Ich folgte deshalb gerne der Anregung und Anleitung seitens des Hrn. G.-R. BINZ, die Möglichkeit einer solchen Vergiftung durch Versuche zu prüfen.

I. Kaninchen von 1400 gr. Klare wässrige Lösung von 0,5 Procent

(1) In zwei anderen Referaten finde ich : « Eine halbe Stunde nachher... »

Arsenik. 20 c.c. davon wurden mittelst eines mit Guttapercha überzogenen Pistills dem Tiere unter mässigem Druck und sorgfältiger Vermeidung der Schleimhäute des Afters und der Genitalien in die unversehrte Haut des Rückens und des Bauches eingerieben. Sodann wurde der ganze Rumpf mit einer dichte Binde umwickelt, damit das Ablecken der Flüssigkeit unmöglich sei, und das Tier in einen gesonderten Behälter gesetzt.

Innerhalb 24 Stunden änderte sich in dem völligen Wohlbefinden des Tieres nichts. Es wurden deshalb jetzt 30 c.c. der Flüssigkeit in der gleichen Weise eingerieben und das Tier wie gestern eingewickelt. Ebenfalls binnen 24 Stunden nicht der geringste Erfolg.

Am dritten Tage wurden dem Tiere die Haare auf dem Rücken und am Bauche sorgfältig abgeschnitten, wobei einige kleine und eine gegen 3 cm. lange Wunden entstanden. Diese blutete und wurde deshalb vernäht. Abermals Einreiben von 30 c.c. Lösung, unter möglichst starkem Druck, auch in die verletzten Stellen. Am zweiten Tage nach diesem Eingriffe bekam das Tier Durchfall und verendete am dritten, also am sechsten Tage des ganzen Versuches. Die Section ergab am Magen nur etwas Röte, am Dündarm kleine Hämorrhagien, im ganzen wenig an Zahl, im ganzen Dickdarm grosse hämorrhagische, schon von aussen sichtbare Flecken. Die Innenfläche zeigte überall Hämorrhagien und unregelmässig verteilte Verschwärungen. Stellenweise war der Darm vollständig brandig und die Schleimhaut mit Fetzen und schmutzigem Eiter bedeckt. Diese Enteritis konnte nur vom Arsenik herrühren, der von der wunden Haut aus aufgesaugt worden war.

II. Kaninchen von demselben Gewicht. Die Haare des Rückens und des Bauches wurden sorgfältig abgeschnitten, jedoch so, dass nicht die geringste Verletzung stattfand. Unter möglichst starkem Druck und 10—20 Minuten lang wurden am ersten Tage 10 c.c., am zweiten 20 c.c. und am dritten Tage 30 c.c , und am vierten Tage wieder 20 c.c. eingerieben, wie immer mit dem breiten Guttaperchapistill. Feste Einwicklung wie früher. Bis zum sechsten Tage von der ersten Einreibung an zeigte das Tier nicht die geringste Aenderung in seinem Befinden. Es wurde dann durch Einatmen von Chloroform getötet. Die Section ergab vollkommen gesunde Organe, Leber und Herz auch bei mikroskopischer Betrachtung. Die äussere Haut zeigte überall an den Stellen des Einreibens ekzemartigen Ausschlag.

III. Einem kleinen männlichen Dachshunde rieb ich über den ganzen Bauch und besonders auch in der Schenkelbeuge gegen 25 Minuten lang

etwa 30 c.c. der Arseniklösung kräftig ein, umwickelte dann den Rumpf des Tieres gut und setzte es in einen besonderen Behälter. Am folgenden Tage war es ganz munter. Die Einreibung wurde wie gestern wiederholt. Keine Spur einer ungünstigen Wirkung wurde an den folgenden Tagen wahrgenommen.

IV. Ein Meerschweinchen rieb ich ebenso gegen 15 Minuten lang ein. Kein einziges Symptom der Vergiftung folgte.

V. Um zu prüfen, ob wirklich die paar Wunden bei den ersten Versuchstiere die Ursache der Vergiftung waren, schnitt ich einem anderen kräftigen Kaninchen die Haare des Rückens und des Bauches ab und machte gegen 20 kleine Hautwunden. Subcutane Venen lagen bloss, aber jede Blutung war vermieden. Es wurden dann 30 c.c. der Lösung eingerieben, was offenbar schmerzhaft für das Tier war. Der Leib wurde mit einer leinenen Binde eingewickelt und eine dünne Kleisterbinde darüber befestigt. Am folgenden und nächstfolgenden Tage war das Tier nicht mehr lebhaft und frass nichts. Die Einreibung wurde wiederholt, ohne dass das Tier jetzt Schmerzen äusserte; es schien betäubt zu sein. Am fünften Tage verendete es. Die Section ergab einen ausgedehnten croupösen Belag auf der Schleimhaut des Dünndarmes und stellenweise Verschwärung. Der Magen und der Dickdarm waren fast normal.

VI. Ein kräftiges Kaninchen wurde mit dem ganzen Rücken in ein Bad von lauwarmem Wasser gehalten, bis unter Reiben der Haut mit dem Wasser diese durch die Haare hindurch vollkommen angefeuchtet war. Sodann wurden in dasselbe kleine Becken hineingebracht 200 c.c. einer 1/2procentigen Lösung von arseniger Säure, die durch Zusatz von 0,2 Natriumcarbonat schwach *alkalisch* gemacht worden war. Sie war 36 Grad warm. Das Kaninchen wurde mit dem ganzen Rücken in sie hineingetaucht und unter wiederholten Reiben des Rückens auf dem Boden des Beckens 32 Minuten darin festgehalten. Eine Berührung der Afteröffnung mit der Arseniklösung wurde sorgfältig vermieden. Herausgenommen wurde es mit lauwarmen Wasser dreimal abgespült, mit einem Handtuche gut getrocknet und in den Stall gesetzt. Es folgte keine Spur von Kranksein.

VII. Ein ebensolches Tier wurde rückwärts aufgebunden und ein Ohr 8 cm. tief in eine ebenso wie vorher bereitete schwach alkalische Arseniklösung bei etwa 20 Grad eingetaucht und 22 Minuten darin festgehalten. Die Gefässe des Ohres waren deutlich erweitert. Nach Ablauf dieser Zeit herausgenommen, wurde das Ohr mit reinem Wasser gut abgespült und abgetrocknet. Das Tier blieb ganz gesund.

VIII. Derselbe Versuch wurde mit einem anderen Tiere unter Eintauchen des Ohres 9 cm. tief und Belassen in dieser Lage während 65 Minuten angestellt. Auch hier folgte nicht die geringste Aenderung des Befindens. Hier wie vorher entstand auch keine örtliche Entzündung.

IX. Der oben erwähnte Dachshund wurde auf den Rücken gebunden und nun wurden ihm 200 c.c. alkalisch gemachter $^1/_2$ procentiger Arseniklösung langsam d. h. tropfenweise auf die beiden fast haarlosen Leistengegenden und den Bauch bis hin zum Brustbein aufgegossen und die Haut anhaltend mit dem breiten Pistille gerieben. Das dauerte etwas über 15 Minuten. Die ganze berieselte und geriebene Partie war stark gerötet aber sonst unversehrt. Das Tier wurde dann mit Brunnenwasser abgespült und laufen gelassen. Es entstand bei ihm nicht das geringste Zeichen einer Vergiftung.

Gegen die Uebertragung des Resultates dieser Versuche auf den Menschen kann man vielleicht sagen, dass das Kaninchen keine (W. KRAUSE) und der Hund weniger Schweisdrüsen hat als er. Das würde allerdings erst den Nachweis fordern, dass die Mündungen der Schweisdrüsen fähig sind, Lösungen fester Körper aufzunehmen. Er ist bis jetzt meines Wissens nicht erbracht.

X. Um das Verhalten der *menschlichen* Haut inbezug auf die Resorptionsfähigkeit für Arsenik kennen zu lernen, wandte ich mich an den Conservator der hiesigen naturgeschichtlichen Sammlung der Universität. Herr F. arbeitet schon viele Jahre fast täglich mit Arsenik, indem er beim Präpariren der Tierbälge die Haut zum Schutze vor Zerstörung mit einer stark arsenikhaltigen (angeblich 50 %) Seife kräftig einreibt. Dieses Einreiben geschieht mit der ungeschützten Hand und die Seife müsste also ebenso in die Haut der Hand wie in die tote Haut des Tieres eindringen. Herr F. hat niemals eine Vergiftung durch Arsenik an sich erfahren, selbst dann nicht, wenn er mit kleineren Wunden an der Hand die Einreibungen ausführte. Er war immer gesund, nur ist er öfters « nervös », ohne erkenntlichen Grund seelisch verstimmt und leidet oft an Durchfällen. Er gab mir seinen Harn und den seines 15jährigen Sohnes, der ihm bei der erwähnten Arbeit hilft. Ich untersuchte (mit freundlicher Unterstützung des Hrn. Dr C. LAAR) davon 3 Liter zu einer Zeit, wo beide viel mit Arsenik gearbeitetet hatten. Es geschah nach der bekannten Methode. Alkalischmachen des Harns, Eindampfen, Zerstören der organischen Substanzen durch chlorsaures Kalium und Salzsäure, Aufnehmen des Rückstandes mit destillirtem Wasser, Eindampfen des Filtrats, Lösen desselben in Wasser und Salzsäure, Sättigen mit Schwefelwasserstoff

bei 70 Grad, Sammeln und Auswaschen des gelben Niederschlags auf einem kleinen Filter, Lösen in Ammoniak behufs Trennung vom Schwefel, Eindampfen, Oxydiren durch rauchende Salpetersäure, Eindampfen zur Trockne, Aufnehmen des Rückstandes mit ein wenig Wasser, Einbringen in den Marsh'schen Apparat.

Hierin zeigte sich nach 10 Minuten ein deutlicher ringförmiger Arsenspiegel von dem Durchmesser eines sehr feinen Fadens, der aber während der folgenden 35 Minuten, wo die enge Röhre weiter geglüht wurde, keine Zunahme darbot. Eine vor Einbringen jenes Rückstandes an dem Apparat lange Zeit im Wasserstoffstrome geglühte Controlröhre hatte nichts ergeben. Es war also Arsen in dem Harn vorhanden, aber in so geringer Menge, dass eine nennenswerte Aufnahme aus der Seife durch die Haut in der letzten Zeit nicht stattgefunden haben kann, abgesehen davon, dass es sich unserer Einsicht ganz entzieht, ob die beiden Personen bei ihrem fast anhaltenden Benutzen des Arseniks nicht durch Finger und Mund davon aufnahmen.

XI. Zur grösseren Sicherheit benutzte ich mich selbst als Versuchsperson und rieb mir an mehreren Stellen des Körpers, so an den Handtellern, den Streck- und Beugeseiten des Unterarms, des Unter- und Oberschenkels, in der Achselhöhle und endlich auf dem Kopfe die Haut sehr kräftig mit einer 1/2procentigen Lösung arseniger Säure. Am ersten Tage rieb ich ein, auf $As_2O_3$ berechnet, dreimal 0,005 gr., also zusammen 0,015 gr., am zweiten Tage 0,05 gr., am dritten Tage 0,07 gr. Im ganzen hatte ich mir in drei Tagen $As_2O_3$ eingerieben 0,135 gr.(1). An allen eingeriebenen Stellen fühlte ich während des Einreibens ein leichtes Brennen, am folgenden Tage entstand überall ein Ekzem, das sich bald zu kleinen Eiterpusteln steigerte, die genau an den Austrittstellen der Haare auftraten.

Während dieser Tage und an den folgenden Tagen fühlte ich mich vollkommen wohl, mit Ausnahme natürlich der örtlichen Unbequemlichkeiten, die mir die Hautentzündung bereitete. Von dem Tage nach der ersten Einreibung und weitere drei Tage sammelte ich meinen Harn und untersuchte ihn in der vorher angegebenen Weise auf Arsen, aber ich bekam nicht die geringste Spur eines Spiegels.

Aus diesen Versuchen dürfte folgen :

1. Arsenik in wässriger Lösung geht unter gewöhnlichen Ver-

(1) Die sogenannten grössten Gaben des Deutschen Arzneibuches sind : Einzelgabe 0,005 gr. und Tagesgabe 0,02 gr.

hältnissen in bemerkbarer Menge durch die gesunde Haut der Warmblüter *nicht* hindurch.

2. Die acute Vergiftung in dem eingangs angezogenen Falle muss andere, für uns unbekannte Ursachen gehabt haben.

3. Bis auf weitere Beweise vom Gegenteil müssen wir an der bisherigen Annahme festhalten, dass die gesunde Haut nur solche wässrige Lösungen hindurchlässt, die aus flüchtigen oder aus epidermislösenden Stoffen bereitet sind (1).

*Bonn, 15 September 1898.*

---

(1) Diese Abhandlung war schon corrigirt, als ich eine andere fand, die ähnlichen Inhalt und dasselbe Ergebnis hat. Es ist die von J. S. STAS im Bulletin Acad. Roy de Méd. de Belg., 1886, 3. sér. XX, 89. Der Verfasser erzählt : Nachdem er die ganze Haut mit einer lauwarmen Lösung von Natriumbicarbonat in Regenwasser abgewaschen hatte, badete er sich in einer Lösung von 0,01 : 100 arsenigsauren Natriums 1 1/2—1 3/4 Stunden lang und wiederholte das an den beiden darauf folgenden Tagen Im Bade war die Oeffnung der Harnröhre gut geschützt. Nach diesen drei Arsenikbädern entstand nicht das geringste Uebelbefinden und der gesammelte Harn enthielt keine Spur Arsen.

Ich bedauere, diese interessante Abhandlung nicht eher zu Gesicht bekommen zu haben, gedenke jedoch, sie bei der Fortsetzung unserer Versuche über die Frage der Aufnahmefähigkeit der Haut nach Gebühr zu verwerten.

TRAVAIL DE L'INSTITUT DE BACTÉRIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN
(PROFESSEUR J. DENYS).

# L'influence de la fièvre sur la production de la substance anti-infectieuse chez le chien vacciné contre le colibacille

PAR

LE Dr A. LEMAIRE (1).

## Introduction.

Il est un fait bien connu de tous ceux qui se sont occupés de vaccination intensive chez les animaux, que les injections de microbes ou de toxines sont suivies d'une réaction fébrile plus ou moins intense. Beaucoup supposent que cette réaction est favorable à la formation de substances antitoxiques ou vaccinantes, et un certain nombre même la croient indispensable.

Le sujet présente donc un grand intérêt au point de vue de la vaccination; mais il nous semble avoir une portée encore plus considérable. On sait actuellement que, d'une façon générale, la guérison d'une maladie infectieuse chez l'homme est liée à la production de l'état d'immunité et que cet état est identique, toutes proportions gardées, à celui qui se crée dans l'économie des animaux hypervaccinés. La question se rattache ainsi directement au grand problème du rôle de la fièvre dans

(1) Mémoire déposé le 1er février 1898 au Ministère de l'Intérieur en vue du concours universitaire et couronné par le jury.

les affections microbiennes. Beaucoup d'auteurs voient dans l'hyperthermie un moyen que l'organisme met en jeu pour lutter contre l'invasion des parasites, et de nombreux travaux ont été faits, dans différentes directions, pour découvrir le mécanisme de ce rôle. Jusqu'à présent on n'y est pas parvenu; mais à notre connaissance personne n'a dirigé ses recherches dans le sens indiqué par le sujet tel que nous l'avons formulé et ne s'est occupé de l'action de la fièvre dans la production des substances anti-infectieuses.

## PRÉLIMINAIRES.

Pour résoudre la question, nous aurions pu étudier l'action de la fièvre en faisant nos expériences avec un des microbes fournissant des sérums dont l'action est bien établie. C'est ainsi que nous aurions pu prendre le bacille de la diphtérie, le bacille du tétanos, le streptocoque pyogène, le vibrion du choléra, etc.; mais nous avons préferé recourir à un organisme pathogène important dont les sérums ont été peu étudiés.

De cette façon nous pouvions réussir non seulement à déterminer le rôle de la fièvre dans la production des antitoxines, mais nous avions la chance, en nous mettant sur un terrain peu exploré, de receuillir de nouveaux faits pour l'étude de l'immunisation en général.

Nous avons choisi le colibacille.

Jusqu'à présent, la production de substances vaccinantes par ce bacille a été peu étudiée. A notre connaissance, il n'y a que deux travaux qui aient pris ce microbe pour ce genre de recherches.

Le premier est de LŒFFLER et ABEL(1) et date du mois de janvier 1896.

Le but de ces auteurs était de rechercher si dans le sérum des animaux vaccinés avec le colibacille ou la fièvre typhoïde, on ne décèlerait pas des propriétés qui pourraient servir à classer définitivement ces deux organismes soit comme deux variétés d'une même espèce, soit comme deux espèces distinctes.

LŒFFLER et ABEL ont immunisé une série de chiens contre le colibacille, et une autre, contre la fièvre typhoïde. Les animaux vaccinés contre le colibacille fournissaient un sérum très actif contre le colibacile, et presque inactif contre la fièvre typhoïde, et vice versa; ceux vaccinés contre la fièvre typhoïde donnaient un sérum très puissant contre la fièvre typhoïde et presque sans action contre le colibacille.

(1) LŒFFLER et ABEL : Centralbl. für Bact. u. Par., Jan., 1896.

Les vaccinations de ces auteurs ont duré plusieurs mois, et, pour donner une idée de la valeur du sérum obtenu par eux, nous dirons que 0,1 c.c. du sérum de leurs animaux protégeait contre la dose 500 fois mortelle.

Le second travail est dû à ALBARRAN et MOSNY (1). Le but de ces auteurs était, non pas de rechercher si les sérums anticolique et antityphique agissaient sur l'une espèce de microbes seulement ou à la fois sur les deux, mais de produire un sérum qu'ils auraient pu employer pour combattre le bacille commun de l'intestin chez l'homme.

Ces auteurs ont réussi jusqu'à un certain degré dans leurs recherches, mais il est difficile de fixer l'activité du produit obtenu par eux.

Il découle des travaux faits par ces différents bactériologistes, que le chien est susceptible de fournir un sérum capable de combattre le colibacille.

Notre tâche à nous est de voir :

I. Si la production de ce sérum est liée à une réaction fébrile de l'organisme.

II. Dans le cas où elle apparaît chez les animaux qui ne subissent pas d'ascensions fébriles, si cette production est aussi active que chez ceux qui subissent cette réaction.

Le colibacille avec lequel nous avons travaillé est un organisme très virulent : il tue surement le cobaye à la dose d'un 0,0005 de c.c. de culture (bouillon de 18 heures de couveuse).

Pour faire nos immunisations nous n'avons pas employé les bacilles vivants, mais les bacilles morts, obtenus sur pomme de terre. Quand on inocule des tranches de pomme de terre avec cet organisme, elles présentent, après 3 jours de couveuse, un enduit épais constitué par la culture. Cet enduit est gratté, pesé exactement et additionné de 9 parties d'eau physiologique. A la suspension nous ajoutons quelques gouttes d'éther qui tuent instantanément les bacilles, comme nous nous en sommes assuré en ensemençant de cette suspension sur de l'agar.

Nous avons préféré les pommes de terre aux bouillons, parce que nous obtenons de cette façon un produit beaucoup plus toxique sous le même volume. Pour tuer nos organismes, nous avons choisi l'éther plutôt

(1) Congrès de Nancy, 1896.

que la chaleur, parce que certains produits microbiens et des plus importants pour l'immunisation sont déjà détruits par des températures de 60°.

Pour l'immunisation nous nous sommes adressé aux chiens. Pour bien comprendre les effets de la toxine sur les animaux, indiquons les trois formes sous lesquelles se présente l'intoxication aiguë (1).

I. *Intoxication légère* : Dans les heures qui suivent l'injection, l'animal est abattu et apathique; sa température monte de 39°5 à 40° et même 40°5.

II. *Intoxication moyenne* : Aux phénomènes décrits ci-dessus, viennent s'ajouter des symptômes du côté du tube digestif : l'animal présente un ou plusieurs vomissements, il émet une ou plusieurs selles, d'abord solides, puis liquides; il est de temps en temps tourmenté de nausées et de ténesme anal; la fièvre est vive : 40°, 40°5, 41°.

III. *Intoxication mortelle* : Les symptômes sont les mêmes que dans l'intoxication moyenne avec cette différence que les phénomènes du côté du tube digestif sont beaucoup plus marqués : les efforts de vomissement se produisent même quand l'estomac est vide, le ténesme est persistant, les selles sont muqueuses et même hémorrhagiques, la température d'abord fébrile s'abaisse et fait place à l'hypothermie, l'animal meurt dans une espèce de coma; à l'autopsie on constate un état hémorrhagique de la muqueuse gastrique et intestinale.

Afin de produire ces différents états, il nous fallait donner par injection souscutanée :

I. Pour l'intoxication légère : 0,1 à 0,3 c.c. de notre émulsion.

II. Pour l'intoxication moyenne : 0,5 à 1 c.c. de notre émulsion.

III. Pour l'intoxication mortelle ; 1 à 2 c.c. de notre émulsion.

Pour combatre l'élévation thermique consécutive à l'injection nous avons employé l'antipyrine, injectée peu de temps avant la toxine. Nous avons traité simultanément par la toxine et par l'antipyrine trois chiens adultes ayant chacun leur témoin traité de la même façon, mais ne recevant aucun antithermique.

L'immunisation a commencé par des doses légères : 0,2 c.c. qui ont été augmentées peu à peu, de façon à atteindre la dose de 3 c.c. donnée en une fois. Cette quantité doit être considérée comme égale à deux doses mortelles.

(1) J. DENYS et CH. VANDENBERG : Bulletin de l'Académie royale de médecine de Belgique, 1893.

L'antipyrine était donnée trois quarts d'heure à une heure avant l'injection et injectée une deuxième fois quand la température menaçait de devenir fébrile. La température était prise dans le rectum à une profondeur toujours la même de 5 ctm., afin d'en obtenir exactement la valeur. Comme nos tableaux l'établiront, la température de nos chiens antipyrinés n'a que rarement dépassé 39° et elle n'a atteint qu'une fois 39°5. Nous avons constaté plusieurs fois cette température chez les chiens normaux, de sorte qu'elle tombe encore dans les limites afébriles. En tous cas, elle n'a été trouvée qu'exceptionnellement puisque nous ne l'avons rencontrée qu'une fois.

Nous avons du reste établi par des expériences spéciales qu'un accès fébrile unique, bien marqué, est sans influence sensible sur la formation des substances vaccinantes. A fortiori il en est ainsi des petites incursions de la colonne mercurielle faites entre 39° et 39°5.

On remarquera que les injections ont eu lieu pour chaque couple de chiens, le même jour, et que la dose donnée a été la même. C'était la condition indispensable pour obtenir des résultats comparatifs. Ajoutons que les injections étaient suivies d'une perte notable de poids qui nous faisaient remettre les suivantes jusqu'au moment où l'animal avait regagné, ou à peu près, son poids primitif.

Nous donnons ici l'histoire de nos 6 chiens dont 3 témoins et trois antipyrinés (1). Pour en faciliter la lecture nous l'avons résumée sous forme de tableaux.

La première colonne indique les jours.

La deuxième colonne indique les heures.

La troisième la dose de toxine injectée.

Le restant du tableau comprend 2 colonnes principales dont :

la première a trait au chien témoin,

la seconde a trait au chien antipyriné.

Chacune de ces 2 colonnes se divise en trois colonnes secondaires : la première donnant les températures, la seconde les observations, la troisième le poids.

Pour ajouter à la clarté de nos tableaux nous avons mis en chiffres gras les températures dépassant 39°5.

---

(1) Nous avons vacciné encore deux chiens témoins. Leur histoire ne présentant d'intérêt qu'au point de vue des nécroses ou de la mortalité de nos animaux, nous n'en parlerons qu'en traitant de cette question.

## PREMIÈRE SÉRIE DE CHIENS.

OBSERVATION GÉNÉRALE. — Ces 2 chiens, à peu près du même poids, ont reçu dans l'espace de 56 jours, 13,6 gr. de notre émulsion, c'est-à-dire 1,36 gr. de bacilles.

Comme une rapide inspection du tableau le fait ressortir, le chien témoin a présenté presque régulièrement des températures dépassant 39°5 (chiffres gras); le maximum atteint a été de 41°5; tandis que le chien traité par l'antipyrine présente comme température la plus élevée 39°3; encore cette température n'a été atteinte qu'une fois; il en est de même pour 39°2. Ce sont les deux températures supérieures à 39 constatées chez ce chien antipyriné pendant toute la durée de l'expérience, et comme nous l'avons dit plus haut, ces chiffres se rencontrent chez des animaux parfaitement normaux. Ajoutons pour bien faire ressortir la différence avec le chien témoin que celui-ci a dépassé 36 fois la température de 39°.

## SÉRIE I.

| JOUR | HEURE | Toxine en c.c. | Chien témoin de 6 kilos | | | Chien antipyriné de 6,700 kilos | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Tempé-rature | OBSERVATIONS | Poids en kgr. | Tempé-rature | OBSERVATIONS | Poids en kgr. |
| 1er | 14,50 | | | | | | 2 grammes d'antipyrine | |
| | 15,5 | 0,2 | 37,8 | | 6,000 | 38 | 1/4 d'heure avant l'inject. | 6,700 |
| | 17 | | **40** | | | 38,2 | abattu | |
| | 19 | | **40,6** | très abattu | | 38,5 | va mieux | |
| | 21 | | 39,5 | va mieux | | 38,7 | normal | |
| 2e | 12 | | 39,2 | normal | 5,800 | 39 | » | 6,400 |
| 3e | 11 | | 39,4 | » | 5,950 | 38,7 | 1 gramme d'antipyrine 3/4 | 6,600 |
| 4e | 12,15 | | | | | 38,9 | d'heure avant l'injection | |
| | 13 | 0,2 | 38,8 | | 6,000 | 38,2 | peu affecté | 6,800 |
| | 15 | | **39,6** | peu affecté | | 39 | » » | |
| | 17 | | **39,8** | » » | | 38,8 | normal | |
| | 19 | | 38,2 | normal | | 38 | » | |
| | 21 | | 38,2 | » | | 38 | » | |
| 5e | 10 | | 38,9 | » | 6,100 | 38,8 | 1/2 gramme d'antipyrine | 6,700 |
| 7e | 12,30 | | | | 6,100 | 38,9 | 1/2 heure avant l'injection | 6,700 |
| | 13 | 0,2 | 38,8 | | 6,100 | 38,5 | pas affecté | 6,700 |
| | 15 | | 39,1 | pas affecté | | 39 | abattu | |
| | 17 | | 39,1 | abattu | | 38,6 | va mieux | |
| | 19 | | 39,1 | va mieux | | 38,4 | rétabli | |
| | 21 | | 39,5 | rétabli | | 38,4 | | |
| 8e | 10 | | 38,7 | | 6,100 | 38,8 | 1 gramme d'antipyrine 1 h. | 7,000 |
| 9e | 11,30 | | 38,8 | | 6,400 | 38,7 | avant l'injection | 7,100 |
| | 12,30 | 0,4 | 38,8 | | | 38 | | |
| | 14,30 | | 38,5 | pas affecté | | 38,5 | pas affecté | |
| | 16,30 | | 38,6 | » » | | 38,5 | » » | |
| | 18,30 | | 38,3 | » » | | 38,6 | » » | |
| | 20,30 | | 38,5 | | | 38,6 | | |
| 10e | 10 | | 38,5 | | 6,000 | 38,5 | | 7,400 |
| 11e | 12,15 | | 38,6 | | 6,200 | 38,6 | 1 gramme d'antipyrine | 7,300 |
| | 13 | 0,6 | | | | | 3/4 d'heure avant l'inject. | |
| | 15 | | 39,1 | très abattu | | 38,1 | peu affecté | |
| | 17 | | **39,6** | » » | | 38,6 | » » | |

## SÉRIE I (*suite*).

| JOUR | HEURE | Toxine en c.c. | Chien témoin de 6 kilos | | | Chien antipyriné de 6,700 kilos | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Tempé-rature | OBSERVATIONS | Poids en kgr. | Tempé-rature | OBSERVATIONS | Poids en kgr. |
| | 19 | | 39,1 | va mieux | | 39 | va mieux | |
| | 21 | | 38,5 | rétabli | | 38,8 | rétabli | |
| 12e | 10 | | 38,5 | | 6,300 | 38,7 | | 7,500 |
| 14e | 11 | | 38,5 | | 6,300 | 38,7 | | 7,500 |
| 15e | 10 | | 38,5 | | 6,700 | 38,5 | | 7,500 |
| 16e | 11,30 | | 38,4 | | 6,400 | 38,6 | 1 gramme d'antipyrine | 7,300 |
| | 12,15 | 1 | | | | | 3/4 d'heure avant l'inject. | |
| | 14,15 | | **40,4** | très abattu | | 38,6 | très abattu | |
| | 16,15 | | **40,7** | » » | | 39,2 | » » | |
| | 16,30 | | | | | | 1/2 gramme d'antipyrine | |
| | 18,15 | | 38,8 | 1 vomissement d'aliments | | 38,5 | va mieux | |
| | 20,15 | | 38,5 | rétabli | | 38,4 | rétabli | |
| 18e | 11 | | 38,6 | | 6,00[illegible] | 38,8 | | 7,200 |
| 19e | 11,15 | | 38,4 | | 6,300 | 38,5 | 1 gramme d'antipyrine | 7,300 |
| | 12 | 1 | | | | | 3/4 d'heure avant l'inject. | |
| | 14 | | 38,7 | peu affecté | | 38,7 | peu affecté | |
| | 16 | | 38,8 | » » | | 39,3 | 1/2 gramme d'antipyrine | |
| | 18 | | 38,5 | » » | | 38,5 | normal | |
| | 20 | | 38,7 | » » | | 38,5 | » | |
| 20e | 11 | | 38,7 | | 5,900 | 38,5 | | 6,900 |
| 21e | 11,30 | | 38,4 | | 6,100 | 38,5 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 7,000 |
| | 12,30 | 1 | | | | | avant l'injection | |
| | 14,30 | | 38,5 | » » | | 38,2 | peu affecté | |
| | 16,30 | | 39,1 | » » | | 39 | 1/2 gramme d'antipyrine | |
| | 18,30 | | 39 | | | 38,5 | | |
| | 20,30 | | 38,8 | normal | | 38,5 | normal | |
| 22e | 11 | | 38,6 | » | 6,100 | 38,5 | | 6,800 |
| 23e | 12 | | 38,4 | | 6,100 | 38,6 | | 6,900 |
| 24e | 12 | | 38,4 | | 6,100 | 38,8 | | 6,900 |
| 25e | 11 | | 38,4 | | 5,700 | 38,4 | | 5,600 |
| 27e | 11 | | 38,4 | Nous constatons une large | 5,500 | 38,5 | | 6,100 |
| | | | | nécrose de forme arrondie | | | | |
| | | | | d'un diamètre de 6 ctm. | | | | |
| | | | | à l'endroit de l'injection | | | | |
| | | | | du 21e jour. | | | | |
| 28e | 11 | | 38,5 | | 5,700 | 38,4 | Nous constatons une très | 6,500 |
| | | | | | | | légère nécrose comme une | |
| | | | | | | | pièce de 50 centimes à | |
| | | | | | | | l'endroit de l'injection du | |
| | | | | | | | 21e jour. | |
| 29e | 11,30 | | 38,9 | | 5,700 | 38,5 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 6,700 |
| | 12,30 | 1 | | | | | avant l injection. | |
| | 14,30 | | **41,5** | très abattu | | 38,2 | pas affecté | |
| | 16,30 | | **41,3** | » » | | 38 | » » | |
| | 18,30 | | **41,4** | » » | | 38,4 | » » | |
| | 20,30 | | **40,8** | » » | | 38 5 | » » | |
| 30e | 11 | | **39,9** | | 5,100 | 38,4 | | 6,600 |
| 31e | 11 | | 39,5 | va bien | 5,000 | 38,5 | va bien | 6,600 |
| 32e | 11 | | 39,2 | | 5,600 | 38,5 | | 7,000 |
| 33e | 11,45 | | 39,3 | | 5,600 | 38,5 | 1 gramme d'antipyrine | 7,000 |
| | 12,30 | 1 | | | | | 3/4 d'heure avant l'inject. | |
| | 14,30 | | **40,5** | peu affecté | | 38,3 | pas affecté | |
| | 16,30 | | **40** | » » | | 38,2 | » » | |
| | 18,30 | | 38,9 | » » | | 38,3 | » » | |
| | 20,30 | | 38 | rétabli | | 38,6 | va très bien | |
| 34e | 11 | | 38,2 | | 5,800 | 38,2 | | 6,800 |
| 35e | 11 | | 38,8 | | 5,700 | 38,5 | | 7,000 |
| 36e | 11 | | 38,5 | | 5,800 | 38,2 | | 7,000 |
| 37e | 11 | | 38,4 | | 5,800 | 38,5 | | 6,800 |

SÉRIE I *(suite)*.

| JOUR | HEURE | Toxine en c.c. | Chien témoin de 6 kilos | | | Chien antipyriné de 6,700 kilos | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Tempé-rature | OBSERVATIONS | Poids en kgr. | Tempé-rature | OBSERVATIONS | Poids en kgr. |
| 38e | 11 | | 38,2 | | 5,800 | 38,2 | | 7,000 |
| 39e | 11,30 | | 38,2 | | 5,800 | 38,2 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 7,000 |
| | 12,30 | 2 | | | | | avant l'injection | |
| | 14,30 | | **39,8** | très peu affecté | | 38,3 | très peu affecté | |
| | 16,30 | | 39,3 | » » » | | 38,5 | » » » | |
| | 18,30 | | 39,2 | » » » | | 38,3 | » » » | |
| | 20,30 | | 39 | normal | | 38,5 | normal | |
| 40e | 11 | | 38,4 | | 5,700 | 38,5 | | 6,800 |
| 41e | 11 | | 38,5 | | 5,800 | 38,2 | | 7,000 |
| 42e | 11 | | 38,4 | | 5,900 | 38,2 | | 7,100 |
| 43e | 11 | | 38,2 | | 6,000 | 38,2 | | 7,100 |
| 44e | 11 | | 38,5 | | 6,000 | 38,2 | | 7,200 |
| 45e | 11 | | 38,5 | | 5,900 | 38,4 | | 7,100 |
| 46e | 11 | | 38,5 | | 5,900 | 38,5 | | 7,200 |
| 47e | 14 | | 38,5 | | 5,900 | 38,6 | 1 gr. d'antipyrine 1/2 heure | 7,500 |
| | 14,30 | 2 | | | | | avant l'injection | |
| | 16,30 | | 39,5 | très peu affecté | | 37,8 | très peu affecté | |
| | 18,30 | | 39,4 | » » » | | 38,1 | » » » | |
| | 20,30 | | 38,4 | » » » | | 37,9 | » » » | |
| 48e | 12 | | 38,4 | | 5,700 | 38,4 | | 7,700 |
| 49e | 11 | | 38,5 | | 5,800 | 38,4 | | 7,800 |
| 50e | 11 | | 38,6 | | 5,900 | 38,5 | | 8,000 |
| 51e | 12 | | 38,5 | | 5,800 | 38,4 | | 8,400 |
| 53e | 16 | | 38,8 | | 5,900 | 38,6 | | 8,400 |
| 54e | 11 | | 38,4 | | 5,800 | 38,7 | | 8,400 |
| 55e | 16 | | 38,6 | | 5,900 | 38,6 | | 8,300 |
| 56e | 14 | | 38,5 | | 5,800 | 38,4 | 1 gr. d'antipyrine 1/2 heure | 8,400 |
| | 14,30 | 3 | | | | | avant l'injection | |
| | 16,30 | | **39,7** | pas affecté | | 38,3 | pas affecté | |
| | 18,30 | | **40** | » » | | 38,4 | » » | |
| | 20,30 | | **39,6** | » » | | 38,4 | » » | |
| | 22,30 | | 39,5 | normal | | 38,3 | normal | |
| 57e | 11 | | 38,4 | | 5,600 | 38,5 | | 8,200 |
| 58e | 12 | | 38,5 | | 5,800 | 38,4 | | 8,400 |
| 59e | 12 | | 38,5 | | 5,800 | 38,5 | | 8,400 |
| 60e | 12 | | 38,4 | | 6,000 | 38,2 | | 8,400 |

REMARQUE. — Nous devons attirer spécialement l'attention sur un phénomène sur lequel nous reviendrons plus tard. Au 27e jour le chien témoin présente au niveau de la dernière injection, une nécrose de la peau d'un diamètre de 6 ctm.; le lendemain le chien antipyriné présente une nécrose, tout au plus grande comme une pièce de 50 centimes.

## DEUXIÈME SÉRIE DE CHIENS.

OBSERVATION GÉNÉRALE. — La durée de l'expérience est de 50 jours, la quantité de toxine reçue est de 10,7 gr., la température maximale du chien témoin est de 40°5. De vraies températures fébriles, c'est-à-dire dépassant 39°5, ne s'observent que dans les premières injections, elles

disparaissent plus tard. L'accoutumance chez ce chien s'est donc établie plus facilement que chez le témoin de la série précédente.

Chez le chien antipyriné nous rencontrons comme maximum de température :

39°4 = 1 fois;
39°2 = 1 fois;
39°1 = 2 fois.

Chez le chien témoin seize températures dépassant 39° sont imputables aux injections. Ces chiffres sont relativement plus faibles que chez le témoin précédent pour le motif indiqué plus haut, à savoir, son accoutumance plus rapide au poison colibacillaire.

## SÉRIE II.

| JOUR | HEURE | Toxine en c.c. | Chien témoin de 7,500 kilos | | | Chien antipyriné de 4,500 kilos | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Température | OBSERVATIONS | Poids en kgr. | Température | OBSERVATIONS | Poids en kgr. |
| 1er | 12 | | 38,4 | | 7,500 | 38,8 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 4,500 |
| | 13 | 0,2 | | | | | avant l'injection | |
| | 15 | | **40,1** | très abattu | | 38,4 | très abattu | |
| | 17 | | **40,5** | » » | | 38,8 | » » | |
| | 19 | | **40,5** | » » | | 38,6 | » » | |
| | 21 | | **40** | » » | | 38,4 | va beaucoup mieux | |
| 2e | 10 | | 39 | normal | 7,250 | 38,8 | normal | 4,500 |
| 3e | 10 | | 38,8 | | 7,500 | 39 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 4,500 |
| | 11 | 0,2 | | | | | avant l'injection | |
| | 13 | | 39,4 | peu affecté | | 38,2 | peu affecté | |
| | 15 | | **40,2** | » » | | 38,4 | » » | |
| | 17 | | **39,6** | » » | | 38,5 | » » | |
| | 19 | | 38,9 | rétabli | | 38,7 | rétabli | |
| 4e | 10 | | 38,9 | | 7,500 | 38,7 | | 4,800 |
| 5e | 11,15 | | 38,5 | | 7,600 | 38,7 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 4,800 |
| | 12,15 | 0,2 | | | | | avant l'injection | |
| | 14,15 | | **40,1** | peu affecté | | 39,1 | 1/2 gr. d'antipyrine | |
| | 16,15 | | 39,4 | | | 38,5 | peu affecté | |
| | 18,15 | | 38,6 | | | 38,4 | | |
| | 20,15 | | 38,6 | | | 38,5 | | |
| 6e | 11 | | 38,4 | | 7,700 | 38,5 | | 4,600 |
| 7e | 14,30 | | 38,7 | | 8,100 | 38,8 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 4,600 |
| | 15,30 | 0,3 | | | | 38,7 | avant l'injection | |
| | 17,30 | | **39,7** | pas affecté | | 38,7 | pas affecté | |
| | 19,30 | | 39 | | | 39,4 | | |
| | 21,30 | | 39 | | | 38,1 | | |
| | 23,30 | | 38,8 | | | 38,4 | | |
| 8e | 11,30 | | 38,8 | | 8,100 | 38,7 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 4,600 |
| | 12,30 | 0,6 | | | | | avant l'injection | |
| | 14,30 | | 38,5 | peu affecté | | 38,4 | peu affecté | |
| | 16,30 | | 38,1 | » » | | 38,8 | | |
| | 18,30 | | 38,4 | » » | | 38,7 | | |
| | 20,30 | | 38,7 | normal | | 38,8 | | |
| 10e | 11 | | 38,7 | | 8,100 | 38,9 | | 4,600 |
| 11e | 11 | | 38,2 | | 8,100 | 38,2 | | 4,600 |
| 12e | 11 | | 38,5 | | 8,300 | 38,7 | | 4,500 |
| 13e | 11 | | 38,8 | | 7,900 | 38,8 | | 4,500 |

## SÉRIE II *(suite)*.

| JOUR | HEURE | Toxine en c.c. | Chien témoin de 7,500 kilos — Tempé-rature | Chien témoin de 7,500 kilos — OBSERVATIONS | Chien témoin de 7,500 kilos — Poids en kgr. | Chien antipyriné de 4.500 kilos — Tempé-rature | Chien antipyriné de 4.500 kilos — OBSERVATIONS | Chien antipyriné de 4.500 kilos — Poids en kgr. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 14e | 11 | | 38,8 | | 8,100 | 38,7 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 4,800 |
| | 12 | 1 | | | | | avant l'injection | |
| | 14 | | **40** | très affecté ; selle liquide | | 38,7 | peu affecté | |
| | 16 | | 39,5 | » » | | 39 | » » | |
| | 18 | | 39 | va mieux | | 39 | normal | |
| | 20 | | 38,8 | normal | | 38,8 | | |
| 15e | 11 | | 38,8 | | 8,100 | 38 | | 4,700 |
| 16e | 11 | | 38,5 | | 8,100 | 38,5 | | 4,900 |
| 17e | 11 | | 38,7 | | 7,700 | 38,7 | | 4,900 |
| 18e | 12,45 | | 38,8 | | 7,800 | 38,5 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 4,900 |
| | 13,45 | 1 | | | | | avant l'injection | |
| | 15,45 | | 39 | peu affecté | | 39.1 | pas affecté | |
| | 17,45 | | 38,5 | » » | | 38,8 | » » | |
| | 19,45 | | 38 | » » | | 38,2 | » » | |
| | 21,45 | | 38,3 | normal | | 38,4 | » » | |
| 19e | 11 | | 38,5 | | 7,500 | 38,5 | | 4,750 |
| 20e | 11 | | 38,6 | | 7,600 | 38,8 | | 5,000 |
| 21e | 11 | | 38,7 | | 7,500 | 38,8 | | 5,000 |
| 22e | 9 | | 38,6 | | 7,500 | 38,6 | | 4,900 |
| 23e | 11 | | 38,5 | | 7,800 | 38,8 | | 4,900 |
| 24e | 11,30 | | 38,5 | | 7,600 | 38,7 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 5,000 |
| | 12,30 | 2 | | | | | avant l'injection | |
| | 14,30 | | 39,5 | très affecté | | 38,3 | peu affecté | |
| | 16,30 | | 38,6 | | | 39,2 | | |
| | 18,30 | | 38,8 | | | 38,7 | | |
| | 20,30 | | 37,9 | va beaucoup mieux | | 38,1 | normal | |
| 25e | 11 | | 38,5 | | 7,500 | 38,8 | | 4,750 |
| 26e | 11 | | 38,6 | | 7,300 | 38,8 | | 5,000 |
| 30e | 11 | | 38,8 | | 7,400 | 38,5 | | 5,000 |
| 31e | 11 | | 38,7 | | 7,400 | 38,7 | | 4,900 |
| 32e | 11 | | 38,8 | | 7,600 | 38,6 | | 5,000 |
| 33e | 11 | | 38,7 | | 7,600 | 38,8 | | 4,900 |
| 34e | 11 | | 38,8 | | 7,700 | 38,7 | | 4,900 |
| 35e | 14 | | 38,7 | | 7,500 | 38,7 | 1 gr. d'antipyrine 1/2 heure | 4,900 |
| | 14,30 | 2 | 39,5 | | | | avant l'injection | |
| | 16,30 | | 39,3 | pas affecté | | 38 | pas affecté | |
| | 18,30 | | 39 | | | 39 | | |
| | 20,30 | | 39 | | | 38,8 | | |
| 36e | 11 | | 38,7 | normal | 6,900 | 39 | normal | 4,600 |
| 37e | 12 | | 38,7 | | 7,400 | 38,7 | | 4,700 |
| 38e | 14 | | 38,8 | | 7,400 | 38,7 | | 4,700 |
| 39e | 12 | | 38,8 | | 7,700 | 38,8 | | 4,700 |
| 40e | 16 | | 38,9 | | 7,500 | 39 | | 4,700 |
| 41e | 11 | | 39 | | 7,500 | 39 | | 4,700 |
| 42e | 11 | | 39,5 | normal | 7,500 | 38,9 | normal | 4,800 |
| 43e | 11 | | 39,5 | » | 7,500 | 38,8 | | 4,700 |
| 44e | 11 | | 39,4 | » | 7,500 | 38,8 | | 4,700 |
| 45e | 14 | | 39,4 | | 7,500 | 38,8 | 1 gr. d'antipyrine 1/2 heure | 4,700 |
| | 14,30 | 3 | | | | | avant l'injection | |
| | 16,30 | | 38,5 | très affecté | | 38,5 | pas affecté | |
| | 18,30 | | 38,3 | » » | | 39 | | |
| | 20,30 | | 38,1 | » » | | 38,8 | | |
| 46e | 11 | | 39 | | 7,500 | 38,8 | | 4,500 |
| 47e | 11 | | 39,4 | | 7,500 | 39 | | 4,700 |
| 48e | 11 | | 39 | | 7,500 | 38,7 | | 4,700 |
| 49e | 11 | | 39 | | 7,500 | 39,2 | | 5,000 |
| 50e | 12 | | 39,1 | | 7,500 | 39,3 | | 5,200 |

## TROISIÈME SÉRIE DE CHIENS.

Observation générale. — Cette série se distingue des deux précédentes en ce qu'elle se termine par la mort des deux animaux.

Le témoin meurt le premier après avoir reçu en tout 2,6 gr. de toxine, tandis que l'antipyriné meurt plus tard après en avoir reçu 5,6 gr.

Chez le chien témoin, la plupart des injections sont suivies d'ascensions fébriles dont le maximum est 40°.

Le chien antipyriné atteint :

39°4 = 1 fois;

39°2 = 2 fois.

## SÉRIE III.

| Jour | Heure | Toxine en c.c. | Chien témoin de 5,400 kilos | | | Chien antipyriné de 5,500 kilos | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Température | Observations | Poids en kgr. | Température | Observations | Poids en kgr. |
| 1er | 11,30 | | 39 | | 5,400 | 38,7 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 5,500 |
| | 12,30 | 0,2 | | | | 39,2 | avant l'injection | |
| | 14,30 | | **39,6** | très affecté | | 39,2 | très affecté | |
| | 16,30 | | **40** | 2 vomissements | | 39 | » » | |
| | 18,30 | | **39,6** | | | 38,9 | » » | |
| | 20,30 | | 39,2 | va mieux | | 39 | normal | |
| 2e | 10 | | 38,7 | | 5,300 | 38,4 | | 5,100 |
| 3e | 12,15 | | 38,8 | | 5,400 | 38,8 | 1 gr. d'antipyr. 3/4 d'heure | 5,600 |
| | 13 | 0,2 | | | | | avant l'injection | |
| | 15 | | 39,2 | peu affecté | | 38,5 | peu affecté | |
| | 17 | | 39,3 | » » | | 38,6 | » » | |
| | 19 | | 38,8 | » » | | 38,5 | » » | |
| | 21 | | 38,8 | normal | | 38,5 | normal | |
| 4e | 9 | | 38,6 | | 5,900 | 38,2 | | 5,600 |
| 6e | | | 38,4 | | 5,700 | 38,5 | | 5,250 |
| 7e | 11,15 | | 38,2 | | 5,400 | 38 | 1 gr. d'antipyr. 3/4 d'heure | 5,400 |
| | 12 | 0,2 | | | | | avant l'injection | |
| | 14 | | **39,6** | affecté | | 38,8 | peu affecté | |
| | 16 | | **39,7** | » | | 38,9 | » » | |
| | 18 | | 39 | va mieux | | 38,4 | » » | |
| | 20 | | 39 | | | 39,1 | » » | |
| | 22 | | 38,8 | normal | | 38,8 | normal | |
| 8e | | | 38,5 | | 5,350 | 38,4 | | 5,350 |
| 10e | | | 38,4 | | 5,300 | 38,4 | | 5,300 |
| 11e | 11,15 | | 38,4 | | 5,400 | 38,5 | 1 gr. d'antipyr. 3/4 d'heure | 5,400 |
| | 12 | 0,4 | | | | | avant l'injection | |
| | 14 | | 39 | peu affecté | | 38,9 | peu affecté | |
| | 16 | | 39,3 | » » | | 38,5 | » » | |
| | | | 39 | » » | | 39,1 | » » | |
| | | | 38,8 | normal | | 38,3 | normal | |
| 12e | | | 38,5 | | 5,000 | 38,4 | | 5,100 |
| 14e | 11,30 | | 38,5 | | 5,200 | | 1 gr. d'antipyrine 1 heure | 5,250 |
| | 12,30 | 0,6 | | | | | avant l'injection | |
| | 14,30 | | 39 | peu affecté | | 38 | peu affecté | |
| | 16,30 | | **40** | | | 38,2 | | |
| | 18,30 | | 39,5 | | | 38,5 | | |
| | 20,30 | | 38,2 | | | 38,8 | | |
| 16e | 11 | | 38,5 | | 4,800 | 38,5 | | 5,200 |
| 17e | 10 | | 38,8 | | 4,500 | 38,6 | | 4,700 |

SÉRIE III *(suite)*.

| Jour | Heure | Toxine en c.c. | Chien témoin de 5,400 kilos<br>Tempé-rature | Observations | Poids en kgr. | Chien antipyriné de 5,500 kilos<br>Tempé-rature | Observations | Poids en kgr. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 18e | 11 | | 38,2 | | 4,600 | 38,5 | | 4,700 |
| 19e | 11 | | 38,2 | nous constatons une nécrose de la peau de forme arrondie et de 6 ctm. de diamètre à l'endroit d'injection du 14e jour | 4,400 | 38,6 | | 4,800 |
| 20e | 11 | | 38,4 | | 4,100 | 38,2 | | 5.100 |
| 21e | 11,30 | | 38,9 | | 4,100 | 38,2 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure avant l'injection | 5,100 |
| | 12,30 | 1 | | | | | | |
| | 14,30 | | **40** | peu affecté | | 39,1 | peu affecté | |
| | 16,30 | | **40** | | | 38,9 | | |
| | 18,30 | | **39,7** | | | 38,8 | | |
| | 20,30 | | 39,2 | | | 38,8 | | |
| 22e | 11 | | 38,7 | assoupi dans un coin | 4,000 | 38,5 | normal | 5,300 |
| 23e | 11 | | | mort † | | 38,5 | | 5,000 |
| 24e | 9 | | | | | 38,5 | | 5,000 |
| 26e | 11,45 | | | | | 38,6 | 1 gr. d'antipyr. 3/4 d'heure avant l'injection | 6,000 |
| | 12,30 | 1 | | | | | | |
| | 14,30 | | | | | 38,5 | 1 vomissement d'aliments | |
| | 16,30 | | | | | 39,4 | assoupi | |
| | 18,30 | | | | | 39,1 | va mieux | |
| | 20,30 | | | | | 38 | normal | |
| 27e | 11 | | | | | 38,7 | | 5,000 |
| 28e | 11 | | | | | 38,5 | | 5,300 |
| 29e | 11 | | | | | 39 | | 4 900 |
| 30e | 11 | | | | | 38,7 | | 5,150 |
| 34e | 11 | | | | | 38,5 | | 5,000 |
| 35e | 11 | | | | | 38,5 | | 5,000 |
| 36e | 11,30 | | | | | 38,5 | 1 gr. d'antipyrine 1 heure avant l'injection | 5,000 |
| | 12,30 | 2 | | | | | | |
| | 14,30 | | | | | 38,5 | 1 vomissement d'aliments | |
| | 16,30 | | | | | 39,4 | assoupi | |
| | 18,30 | | | | | 38,7 | va mieux | |
| | 20,30 | | | | | 38,4 | rétabli | |
| 37e | 11 | | | | | 37,8 | parait affecté | 4,600 |
| | 16,30 | | | | | 37 | état adynamique | |
| | 16,45 | | | | | | mort † | |

Remarques. — Dans cette série, nous devons noter particulièrement une nécrose de la peau de 6 ctm. de diamètre survenue chez le chien témoin au 19e jour, comme conséquence de la 5e injection, tandis que la peau du chien antipyriné est restée indemne contre la dose presque double.

Retenons que nos chiens sont morts le lendemain ou le surlendemain d'une injection, sans présenter à l'autopsie les signes d'inflammation gastro-intestinale propres aux animaux non habitués au poison.

**Pouvoir anti-infectieux du sérum des chiens vaccinés, sur les cobayes.**

Les expériences de Lœffler et d'Abel ont montré que le sérum des chiens vaccinés préserve le cobaye contre l'infection colibacillaire. C'est également à cet animal que nous avons eu recours pour faire nos premières expériences avec nos animaux témoins et antipyrinés.

Nous avons choisi les chiens de notre première série.

A tous les deux nous pratiquons une petite saignée, la veille de l'expérience; le sang est défibriné et le sérum recueilli après le dépôt des globules rouges. Le sérum ainsi obtenu fut mêlé intimement aux microbes et le mélange injecté dans le péritoine.

## EXPÉRIENCE I.

Elle comprend quatre séries de cobayes :

1° Une première série traitée par le sérum du chien témoin;

2° Une deuxième série » » » » » » antipyriné;

3° Une troisième série » » » » d'un chien ordinaire;

4° Une quatrième série ne recevant aucun sérum.

Nous donnons ici le tableau de cette expérience :

| | DOSE de microbes pour 1 kilo | DOSE de sérum pour 1 kilo | POIDS du cobaye | RÉSULTATS |
|---|---|---|---|---|
| | c.c. | c.c. | gr. | |
| Série du chien vacciné témoin | 1 | 0,5 | 600 | reste en vie; pas de fièvre. |
| | 1 | 0,25 | 500 | id. |
| | 1 | 0,1 | 400 | id. |
| Série du chien antipyriné | 1 | 0,5 | 500 | reste en vie; pas de fièvre. |
| | 1 | 0,25 | 500 | id. |
| | 1 | 0,1 | 500 | id. |
| Série du chien ordinaire | 1 | 0,5 | 700 | trouvé mort le lendemain. |
| | 1 | 0,25 | 600 | id. |
| | 1 | 0,1 | 500 | id. |
| Série des cobayes sans sérum | 0,01 | | 300 | trouvé mort le lendemain. |
| | 0,005 | | 300 | id. |
| | 0,001 | | 260 | trouvé mort le surlendemain. |
| | 0,0005 | | 300 | id. |

Cette expérience nous fournit des résultats précieux. Elle nous apprend *que les chiens antipyrinés présentent comme les chiens non antipyrinés un pouvoir considérable contre le colibacille; 0,1 c.c. de leur sérum préserve contre 1 c.c. de culture, c'est-à dire contre 5000 doses mortelles,* comme le montre le dernier groupe de cobayes. Cette action n'est pas due au sérum de chien seul, car nous voyons que les cobayes qui ont reçu le sérum des chiens non vaccinés succombent tous.

Le pouvoir vaccinant de nos animaux doit être envisagé comme considérable, et égale en énergie s'il ne le dépasse, celui des chiens de Lœffler, qui du reste ont été soumis à des injections pendant 6 à 8 mois, alors que le maximum de durée pour les nôtres a été de deux mois.

Quant à l'efficacité du sérum obtenu par Albarran et Mosny, elle ne nous semble pas même établie, ces auteurs s'étant contentés de faire agir

leur sérum contre la simple dose mortelle. Or, LŒFFLER avait déjà démontré que le sérum d'animaux neufs est capable de neutraliser une ou plusieurs doses mortelles.

Si cette expérience nous montre que nos deux animaux possèdent un pouvoir vaccinant considérable, elle ne révèle pas quel est celui des deux qui possède le plus de vaccin.

La réponse nous est donnée par l'expérience suivante :

## EXPÉRIENCE II.

Elle comprend 3 séries de cobayes :

1° Une première série se rapportant au chien témoin.

2° Une deuxième série » » » » antipyriné.

3° Une troisième série de cobayes ne recevant aucun sérum.

En voici le tableau :

| | DOSE de microbes pour 1 kilo | DOSE de sérum pour 1 kilo | POIDS du cobaye | RÉSULTATS |
|---|---|---|---|---|
| | c c. | c.c. | gr. | |
| Série du chien vacciné témoin | 1 | 0,05 | 700 | trouvé mort le lendemain. |
| | 1 | 0,02 | 760 | id. |
| | 1 | 0,01 | 700 | id. |
| Série du chien antipyriné. | 1 | 0,05 | 700 | trouvé mort le lendemain. |
| | 1 | 0,02 | 760 | id. |
| | 1 | 0,01 | 700 | id. |
| Série des cobayes sans sérum | 0,001 | | 200 | trouvé mort le lendemain. |
| | 0,0005 | | 300 | id. |

Dans ce tableau nous trouvons la limite de la puissance de nos deux chiens. Dans l'expérience précédente nous avions vu que 0,1 c.c. de leur sérum préservait contre 1 c.c. de culture; la dose moitié moindre 0,05 et a fortiori les doses plus faibles n'ont pas sauvé les cobayes.

Nous concluons *que le pouvoir, que possèdent nos deux chiens pour immuniser les cobayes, est sensiblement le même. Il est aussi développé chez l'animal qui a réagi par de nombreux accès de fièvre que chez celui qui s'est maintenu afébrile.*

Nous avons également fait quelques expériences avec le sérum des chiens de notre série II. La saignée fut pratiquée la veille de l'expérience et le sérum appliqué aux cobayes de la même façon que plus haut, c'est-à-dire, mélangé intimement avec les microbes et le mélange injecté dans le péritoine. Les expériences ont été éxécutées avant les précédentes à une époque où nous ne nous doutions pas du haut degré de vaccination de nos chiens. C'est ce qui explique comment les doses de microbes sont plus faibles. Néanmoins, ces expériences méritent d'être rapportées parce qu'elles

nous apprennent que le sang de ces deux chiens possédait également des substances vaccinantes.

Voici le tableau d'une de ces expériences.

## EXPÉRIENCE III.

Cette expérience est faite avec le sérum des chiens de la série II ; elle comprend trois séries de cobayes :

1° Une première série se rapportant au chien témoin.

2° Une deuxième série » » » » antipyriné.

3° Une troisième comprenant des cobayes sans sérum.

En voici le tableau :

| | DOSE de microbes pour 1 kilo | DOSE de sérum pour 1 kilo | POIDS du cobaye | RÉSULTATS |
|---|---|---|---|---|
| | c.c. | c.c. | gr. | |
| Série du chien vacciné témoin | 0,1 | 0,1 | 600 | reste en vie sans présenter de fièvre. |
| | 0,05 | 0,1 | 700 | id. |
| | 0,01 | 0,1 | 500 | id. |
| Série du chien antipyriné. | 0,1 | 0,1 | 700 | id. |
| | 0,05 | 0,1 | 600 | id. |
| | 0,01 | 0,1 | 600 | id. |
| Série des cobayes sans sérum | 0,001 | | 500 | trouvé mort le lendemain. |
| | 0,0005 | | 600 | id. |

Nous n'avons pu, par suite de la mort de nos animaux, essayer le sérum des chiens de la série III. Il nous suffit, du reste, d'avoir établi ce pouvoir et son équivalence chez les 2 premières séries, pour être autorisé à affirmer que la réaction fébrile n'est pas une condition nécessaire pour le développement de la substance anti-infectieuse, et que la quantité de celle-ci est indépendante de la même réaction.

Nous devons maintenant rencontrer une objection qui sans doute s'est déjà fait jour dans l'esprit du lecteur : L'antipyrine, à côté de son action sur la fièvre, n'a-t-elle pas exercé sur la production des substances vaccinantes une influence indépendante de son pouvoir antithermique.

Pour trancher la question, nous avons d'abord recherché si ce produit n'exerçait pas d'action directe sur la toxine. Cette supposition est d'autant plus fondée que l'on a plusieurs exemples de substances chimiques bien définies, qui atténuent directement les effets de la toxine, telles sont l'iode et plusieurs de ses composés.

Nous avons dans deux expériences ajouté une forte proportion d'antipyrine à une émulsion diluée de toxine, dont nous connaissions exactement la toxicité. La quantité d'antipyrine était telle qu'elle suffisait à neutraliser

molécule à molécule des quantités de poison bien plus considérables. Le mélange a été laissé à la température du corps pendant 48 heures, il a été ensuite dialysé dans les tubes en parchemin jusqu'à disparition des réactions de l'antipyrine.

Il y a longtemps déjà que les expériences de DENYS et BRION (1) ont montré que la toxine du colibacille ne diffuse pas, nous ne risquions donc pas de la voir partir avec l'antipyrine. Or, cette toxine dialysée s'est montrée aussi active qu'au début de l'expérience, bien entendu si nous tenons compte des changements de volume que la dialyse lui avait fait subir.

Inoculée après chacune de ces expériences à la dose de 0,2 c.c., elle a fait monter la température à 40°5 et a même provoqué quelques symptômes gastro-intestinaux.

On doit donc abandonner l'hypothèse d'une action directe de l'antipyrine sur la toxine.

Autre supposition : l'antipyrine jouirait-elle par hasard elle-même de propriétés vaccinantes?

Nous avons traité un chien par des injections d'antipyrine espacées comme nous faisions avec nos chiens soumis en même temps à la toxine. L'épreuve a duré un mois, pendant lequel ce chien a reçu 12 doses de 1 gramme chacune. Quelques jours plus tard l'animal reçut en injection souscutanée 0,3 c.c. de toxine. Il présenta une fièvre de 6 heures avec un maximum de 40°1, accompagnée d'abattement général. On doit conclure de cette expérience que, malgré le traitement prolongé à l'antipyrine, l'immunisation du chien vis à vis du colibacille n'avait fait aucun progrès.

Mais nous avons voulu serrer le problème de plus près et nous nous sommes attaché à supprimer le facteur fièvre sans introduire dans le corps aucune substance chimique de quelque nature qu'elle fut.

Pour cela nous avons empêché la fièvre de se produire, par l'application de vessies de glace. Le chien avait à demeure dans le rectum un thermomètre. Dès que celui-ci s'approchait de la limite fébrile, nous déterminions immédiatement par une application de vessies de glace, un abaissement de température. Quand elle était descendue à 38° la glace était retirée et réappliquée à nouveau quand la température menaçait de devenir fébrile.

Nous ne lâchions les chiens que quand ces ascensions menaçantes avaient disparu et pour plus de sûreté nous avons continué à prendre

(1) J. DENYS et BRION : *La Cellule*, 1892.

fréquemment leur température après le moment où ils ont été mis en liberté. Ces opérations se prolongeaient en moyenne de 6 à 8 heures.

Nous avons fait dans le cours de ces expériences une observation très intéressante. Au fur et à mesure que nous avancions dans la vaccination, les séances devenaient plus courtes et nécessitaient des applications moins nombreuses et parfois moins prolongées de glace. Tandisque dans la première séance, nous devions faire intervenir les vessies 2—3 fois par heure, dans les dernières nous pouvions laisser les chiens plus longtemps sans glace. Ce fait seul nous prouvait que nos animaux, malgré leur état afébrile, subissaient la vaccination. Nous avons vacciné de la sorte 3 chiens d'un poids analogue aux précédents.

Nous croyons superflu de donner tout au long le détail de ces expériences. Nous nous contenterons de donner le tableau de la vaccination d'un de ces animaux. Ce tableau est distribué comme les précédents. Au chapitre des observations le signe + indique l'application de glace et le signe — la suspension.

Voici le tableau type de ce genre de vaccination.

CHIEN GLACÉ I.

| JOUR | HEURE | TOXINE en c.c. | TEMPÉRATURE | OBSERVATIONS | POIDS en kgr. |
|---|---|---|---|---|---|
| 1er | 14.15 | 0,2 | 38,4 | | 6,100 |
| | 15 | | 38,9 | + l'animal est pris bientôt d'un tremblement généralisé qui ne se produit d'abord qu'à l'inspiration, puis devient continu; il se débat énergiquement dans ses liens. | |
| | 15.15 | | 38 | — l'animal est affecté. L'agitation a cessé. Il est calme et plus ou moins flasque. Le tremblement continue. | |
| | 15.35 | | 39 | + malgré l'application de glace, l'animal reste calme dans ses liens. | |
| | 16 | | 38 | — le tremblement persiste. | |
| | 16.20 | | 39,1 | + » » » | |
| | 16.55 | | 38 | — | |
| | 18,30 | | 38,9 | + | |
| | 18,40 | | 38 | — | |
| | 19 | | 39,1 | + l'apathie constatée tantôt semble diminuer. L'animal recommence à s'agiter dans ses liens. Le tremblement n'a pas discontinué. | |
| | 19,15 | | 38 | — | |
| | 20 | | 39 | + | |
| | 20,15 | | 38,2 | — l'agitation a repris comme au début. | |
| | 21,20 | | 39 | + | |
| | 21,35 | | 38,1 | — | |
| | 22,30 | | 38,9 | + | |
| | 22,45 | | 38 | — nous suspendons définitivement la glace et délions le chien. L'animal est très vif et ne paraît nullement affecté. Il prend sa nourriture comme un chien normal. | |

CHIEN GLACÉ I *(suite)*.

| JOUR | HEURE | TOXINE en c.c. | TEMPÉRA-TURE | OBSERVATIONS | POIDS en kgr. |
|---|---|---|---|---|---|
| | 23,30 | | 38,8 | | |
| | 24 | | 38,8 | | |
| | 1 | | 38,5 | | |
| 2e | 11 | | 38,8 | | 5,900 |
| 3e | 11 | 0,5 | 39 | | 6,100 |
| | 11,30 | | 39,1 | + l'animal s'agite dans ses liens. Le tremblement débute comme lors de l'injection précédente, d'abord à l'inspiration, puis il devient continu. | |
| | 11,45 | | 38 | — le tremblement persiste. | |
| | 12,30 | | 39 | + l'animal devient tranquille, mais ne présente aucun symptôme gastro-intestinal. | |
| | 12,45 | | 38 | — | |
| | 13,15 | | 39,1 | + | |
| | 13,30 | | 38 | — | |
| | 14,30 | | 38,9 | + | |
| | 14,50 | | 38 | — | |
| | 16 | | 39 | + l'apathie persiste, mais nous ne notons ni vomissement ni diarrhée. | |
| | 16,15 | | 38 | | |
| | 18 | | 39,1 | + l'agitation reprend par moment. | |
| | 18,15 | | 38,2 | — | |
| | 20,30 | | 38,9 | + | |
| | 20,40 | | 38 | — nous suspendons la glace définitivement. L'animal prend sa nourriture comme un chien normal. | |
| | 21,30 | | 38,5 | | |
| | 22 | | 38,5 | | |
| | 23 | | 38,5 | | |
| 4e | 11 | | 38,8 | | 5,800 |
| 5e | 11 | | 39 | | 6,000 |
| 6e | 11 | | 39 | | 6,100 |
| | 12 | 1 | 39 | | 6,100 |
| | 15 | | 39,3 | + l'animal est très vif, il tremble sous l'influence de la glace mais ne présente rien d'alarmant, malgré la haute dose injectée. | |
| | 15,15 | | 38,2 | — | |
| | 16,25 | | 39 | + | |
| | 16,40 | | 38,1 | — | |
| | 17,52 | | 38,9 | + | |
| | 18,5 | | 38 | — | |
| | 19,20 | | 39,1 | + | |
| | 19,30 | | 38,1 | — | |
| | 21 | | 39 | + | |
| | 21,10 | | 38,2 | — nous suspendons la glace définitivement. L'animal n'a présenté aucun symptôme gastro-intestinal. | |
| | 22 | | 38,5 | | |
| | 23 | | 38,4 | | |
| 7e | 11 | | 38,6 | | 6,000 |
| 8e | 11 | | 39 | | 5,900 |
| 9e | 11 | | 39 | | 5,950 |
| 10e | 11 | | 38,7 | | 5,950 |
| 11e | 9 | | 39 | | 5,900 |
| 12e | 12 | | 38,5 | | 6,000 |
| 13e | 9 | | 39 | | 6,000 |
| 14e | 11 | | 39 | | 6,000 |
| 15e | 11 | | 38,8 | | 5,900 |
| 16e | 11 | | 39,2 | | 5,900 |
| 17e | 11 | | 39 | | 5,900 |
| 18e | 11 | | 38,7 | | 5,900 |
| 19e | 11 | | 39 | | 6,000 |
| 20e | 11 | | 39 | | 6,100 |

CHIEN GLACÉ I *(suite).*

| JOUR | HEURE | TOXINE en c.c. | TEMPÉRATURE | OBSERVATIONS | POIDS en kgr. |
|---|---|---|---|---|---|
| 21e | 9 | | 39 | | 6,100 |
| | 9,30 | 1 1/2 | | | |
| | 13 | | 39 4 | + aucun symptôme gastro-intestinal. | |
| | 13,15 | | 38,2 | — | |
| | 14,30 | | 39 | + | |
| | 14,15 | | 38,2 | — | |
| | 15,20 | | 39 | + | |
| | 15,30 | | 38,2 | — | |
| | 17 | | 38,8 | + | |
| | 17,15 | | 38,1 | — nous suspendons définitivement la glace. L'animal reste parfaitement normal. | |
| | 18 | | 38,8 | | |
| | 19 | | 38,8 | | |
| | 20 | | 38,6 | | |
| 22e | 11 | | 38,8 | | 6,100 |
| 23e | 11 | | 39,1 | | 6,100 |
| 24e | 11 | | 39 | | 6,000 |
| 25e | 11 | | 39 | | 6,100 |

Remarques. — Comme on le voit par l'examen du tableau, cette immunisation a été rapide, puisqu'en 21 jours nous sommes parvenu à faire supporter à notre animal 1 1/2 dose mortelle; et d'autre part, elle est incontestable, puisque même après injection de cette dose, non seulement la mort ne se produit pas, mais aucun symptôme ne vient trahir dans le corps du chien la présence du poison. Il est vrai que la fièvre est masquée par les applications de glace, mais cet agent est sans action contre les symptômes gastro-intestinaux qui se montrent déjà après injection de 0,5 c.c. de toxine chez un chien normal.

Il découle de ces expériences *que les animaux maintenus à la température normale par simple soustraction de calorique acquièrent l'état d'immunité comme ceux qui reçoivent l'antipyrine.* Ils supportent en effet, sans troubles appréciables, des doses que l'on doit considérer comme mortelles. Non seulement avec leur sérum modifié, ils se protègent eux-mêmes, mais ils communiquent leurs propriétés nouvelles aux animaux inoculés avec leur sérum.

L'expérience suivante le prouve largement.

### Pouvoir anti-infectieux du sérum des chiens glacés.

### EXPÉRIENCE IV.

Elle comprend 3 séries de cobayes :

La première série a trait au sérum des chiens glacés.

La deuxième série a trait au sérum d'un chien neuf.
La troisième série » » à des cobayes sans sérum.

| | DOSE de microbes pour 1 kilo | DOSE de sérum pour 1 kilo | POIDS du cobaye | RÉSULTATS |
|---|---|---|---|---|
| | c.c. | c.c. | gr. | |
| Série du chien vacciné glacé | 0,1 | 1 | 500 | reste en vie ; pas de fièvre. |
| | 0,1 | 1/2 | 500 | id. |
| | 0,1 | 1/4 | 500 | id. |
| Série du chien neuf. . . . | 0.1 | 1 | 500 | trouvé mort le lendemain. |
| | 0,1 | 1/2 | 500 | id. |
| | 0,1 | 1/4 | 500 | id. |
| Série des cobayes sans sérum | 0,001 | | 400 | trouvé mort le lendemain. |
| | 0,0005 | | 300 | id. |

*Cette expérience établit à toute évidence que, chez les chiens maintenus afébriles au moyen de la glace, les substances immunisantes se développent dans le sang aussi bien que chez les chiens antipyrinés. L'action de l'antipyrine ne peut être interprétée comme étant le résultat d'une action indépendante de son influence sur la température.*

Il est vrai que dans cette dernière expérience le sérum ne montre pas la même activité que dans celles faites avec le sérum des chiens antipyrinés, mais la raison doit s'en trouver dans la différence de la durée de l'immunisation. Les chiens antipyrinés ont été hypervaccinés pendant 50 à 60 jours et ont reçu de 10 à 13 gr. de toxine, tandis que les chiens refroidis par la glace n'ont reçu que 3 c.c. en l'espace de 21 jours. Le point essentiel c'est l'apparition chez ceux-ci de substances anti-infectieuses indépendamment de toute température fébrile.

CONCLUSIONS. — Nous voici arrivé au terme de notre travail, nous croyons avoir établi d'une manière péremptoire que la fièvre n'est pas nécessaire à la formation des substances anti-infectieuses que les inoculations répétées font naître dans le sang. Bien plus, nos expériences semblent plutôt établir que *la fièvre, loin d'être utile pour l'organisme, lui est plutôt nuisible.* C'est ce qui semble indiqué par le sort de nos chiens vaccinés.

Sur les 9 chiens antipyrinés, témoins et glacés, dont nous avons exposé l'histoire tout au long dans notre travail, trois ont présenté une nécrose de la peau. Parmi eux se trouvent deux témoins chez lesquels la gangrène enlève un lambeau de peau de 6 ctm. de diamètre, et un chien antipyriné chez qui la peau se gangrène seulement sur l'étendue d'une pièce de cinquante centimes.

A côté de ces 9 chiens, nous possédons encore deux chiens témoins dont il n'a pas été question jusqu'ici, parce que leur histoire ne présentait guère d'intérêt général. Au cours de leur vaccination l'un d'eux a présenté

une nécrose double. Chaque plaque nécrosée était grande comme une pièce de 2 francs.

Ce qui fait que :

*Sur cinq chiens témoins 2 présentent une large nécrose et 1 une nécrose double.*

*Sur trois chiens antipyrinés : un seul offre ce symptôme et encore dans une mesure considérablement réduite.*

*Sur trois chiens glacés : pas un seul ne présente de gangrène.*

Si nous examinons maintenant le sort ultérieur de nos 11 chiens, *nous trouvons que des cinq chiens témoins trois ont succombé.* Le premier est le chien témoin de la série III, il est mort après injection de 1 c.c. de toxine, mais sans présenter les signes de l'empoisonnement aigu. Le second et le troisième sont les chiens témoins dont il vient seulement d'être question ci-contre. Le second est celui qui a présenté deux nécroses, il a succombé également à l'injection d'un centimètre cube, après avoir reçu successivement dans l'espace de 30 jours 3 c.c. de toxine dont les injections ont été espacées comme pour les autres chiens. La mort ne peut donc s'expliquer par la marche particulièrement rapide des injections. Le troisième chien a succombé à la dose de 2 c.c. en présentant tous les signes de l'empoisonnement aigu. Ce chien a été vacciné, lui aussi, d'une façon tout à fait identique aux autres; seulement il est mort beaucoup plus tard après avoir reçu 5 1/2 c.c. dans l'espace de 39 jours.

*De nos 6 chiens antipyrinés et glacés, un seul succombe,* c'est le chien antipyriné de la série III et encore offre-t-il une résistance plus grande que son témoin. En effet, après que celui-ci avait succombé à 1 c.c., le chien antipyriné a encore subi deux injections de 1 c.c. et 2 c.c. et c'est cette dernière seulement qui l'a abattu.

Le tableau suivant résume d'ailleurs d'une façon saisissante les nécroses et la mortalité que nous avons observées au cours de nos vaccinations. Comme on le verra, les résultats positifs que nous avons obtenus sous ces deux rapports ont trait pour ainsi dire exclusivement aux chiens témoins.

| | | NÉCROSES | | | | MORTALITÉ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Résultat | Jour | Dose d'injection | Grandeur | Résultat | Jour | Dose d'injection |
| Chiens témoins | 1re série | + | 27e | 1 c.c. | 6 ctm. | — | | |
| | 2e série | — | | | | — | | |
| | 3e série | + | 19e | 0,6 | 6 ctm. | + | 23e | 1 c.c. |
| | IV | ++ | 19e | 0,3 | 3 ctm. | + | 27e | 1 c.c. |
| | V | — | | | | + | 34e | 2 c.c. |
| Chiens antipyrinés | 1re série | + | 28e | 1 c.c. | 2 ctm. | — | | |
| | 2e série | — | | | | — | | |
| | 3e série | — | | | | + | 37e | 2 c.c. |
| Chiens glacés | I | — | | | | — | | |
| | II | — | | | | — | | |
| | III | — | | | | — | | |

Tout cet ensemble ne paraît-il pas indiquer *que l'antipyrine ou les applications de glace augmentent la résistance des animaux à la toxine du colibacille?* Est-ce en supprimant les hautes températures qui, d'après LIEBERMEISTER et tant d'autres, exerceraient une action fâcheuse sur l'économie? Est-ce une action directe sur les toxines? Nous ne saurions le dire; mais la façon dont se comportent nos chiens nous paraît tout à fait digne d'attention. Les antipyrétiques, après avoir joui d'une grande vogue, ont perdu de leur crédit. Nos expériences tendraient à démontrer que ces agents sont plus utiles qu'on ne le suppose. Non seulement ils ne s'opposent pas à la formation des substances immunisantes, mais ils protégeraient contre les effets de la toxine. A ce point de vue, la question des antithermiques mériterait d'être reprise et il n'est pas douteux que grâce aux méthodes modernes elle ne reçoive rapidement une solution satisfaisante.

Ce travail a été entrepris sur le conseil et sous la direction de Monsieur le professeur DENYS. Qu'il nous soit permis d'exprimer ici à notre cher maître l'expression de notre profonde reconnaissance.

*Louvain, 27 septembre 1898.*

# Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille. — Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise

PAR

L. CAMUS, et E. GLEY,

Chef adjoint des travaux pratiques de physiologie — Professeur agrégé de physiologie

à la Faculté de Médecine de Paris.

## I. — Historique.

C'est A. Mosso qui a découvert le fait si intéressant de la toxicité du sérum d'anguille (1). Il a montré les effets généraux qui sont consécutifs aux injections sous-cutanées ou intra-veineuses de ce sérum sur des animaux divers, grenouille, pigeon, cobaye, lapin et surtout chien; à ce point de vue, il distingue les cas où les animaux meurent avec de fortes convulsions et ceux où ils présentent des accidents paralytiques; mais il n'a pas recherché la cause de cette différence. Quant à la dose mortelle, elle est de 0,1 c.c. à 0,2 c.c. par kilogr. pour le lapin et 0,2 c.c. à 0,3 c.c. pour le chien en injection intra-veineuse; cette dose amène la mort en quelques minutes; si on emploie 0,4 c.c. ou un peu plus par kilogr. chez le chien, et que l'on pratique la respiration artificielle, la mort n'en survient pas moins et aussi rapidement. — Introduit dans l'estomac, le sérum d'anguille n'est pas toxique.

D'autre part, A. Mosso a étudié d'une façon plus ou moins détaillée plusieurs des troubles fonctionnels qui se produisent dans ces cas, troubles de la respiration, du cœur et de la circulation, du système nerveux. La respiration s'accélère d'abord, puis s'arrête; cet arrêt serait d'origine centrale; la mort se produit donc par arrêt respiratoire; mais quand la dose est forte, le cœur cesse de battre en même temps que cessent les

(1) A. Mosso : *Un venin dans le sang des Murénides*. Arch. ital. de Biologie, X, p. 141—169, 1888.

mouvements respiratoires. En ce qui concerne le cœur, tout se passe comme s'il y avait d'abord excitation des nerfs modérateurs, puis paralysie; à un ralentissement du cœur succède en effet une accélération; mais il doit y avoir en outre une action locale sur le cœur; cependant le poison serait à peu près sans action sur le cœur de la grenouille; sur ce point, il est vrai, Mosso dit n'avoir fait que peu d'expériences. La pression sanguine intra-artérielle s'élève presque tout de suite après l'injection; ce phénomène paraît tenir aux convulsions qui se produisent à ce moment, quand on injecte une forte dose; puis la pression s'abaisse. Le système nerveux est profondément atteint; l'excitabilité des nerfs moteurs, chez la grenouille, est très diminuée; il en est de même de l'excitabilité propre des muscles; ces faits, à la vérité, n'ont pas été constatés avec le sérum de toutes les anguilles. Chez les animaux supérieurs, les accidents convulsifs ou paralytiques qui ne manquent jamais montrent bien l'action du poison sur le système nerveux.

Mosso a enfin très bien vu un autre fait fort intéressant, c'est que le sang des animaux intoxiqués devient incoagulable; il s'était promis de l'étudier, mais il n'a pas, que nous sachions, réalisé ce projet. On sait combien dans ces dernières années s'est développée la question de l'action des substances anticoagulantes. Le fait découvert par Mosso a été soumis à une analyse soignée par Delezenne (1). Cet expérimentateur a montré, entr'autres choses, que le sérum d'anguille agit à la façon de la propeptone (2),

(1) C. Delezenne : *Action du sérum d'anguille et des extraits d'organes sur la coagulation du sang*. Arch. de Physiol., 5e série, IX, p. 646—660, 1897.

(2) Ch. Contejean : *Nouvelles recherches sur l'influence des injections intra-vasculaires de peptone sur la coagulabilité du sang chez le chien*. Arch. de Physiol., 5e série, VII, p. 245—251, 1895. — E. Gley et V. Pachon : *Du rôle du foie dans l'action anticoagulante de la peptone*. Comptes rendus de l'Acad. des Sc., 26 août 1895, p. 383; *Influence des variations de la circulation lymphatique intra-hépatique sur l'action anticoagulante de la peptone*. Arch. de Physiol., 5e série, VII, p. 711—718, 1895; *Influence de l'extirpation du foie sur l'action anticoagulante de la peptone*. Comptes rendus de la Soc. de Biol., 23 novembre 1895, p. 741; *Influence du foie sur l'action anticoagulante de la peptone*. Comptes rendus de l'Acad. des Sc., 26 mai 1896, p. 1229; *Recherches concernant l'influence du foie sur l'action anticoagulante des injections intraveineuses de propeptone*. Arch. de physiol., 5e série, VIII, p. 715—723, 1896. — C. Delezenne : *Formation d'une substance anticoagulante par circulation artificielle de peptone à travers le foie*. Arch. de Physiol., 5e série, VIII, p. 655—668, 1896. — E. Hédon et C. Delezenne : *Effets des injections intra-veineuses de peptone après l'extirpation du foie combinée à la fistule d'*Eck. Comptes rendus de la Soc. de Biol., 20 juin 1896, p. 633. — E. Gley : *A propos de l'effet de la ligature des lymphatiques du foie sur l'action anticoagulante de la propeptone*. Comptes rendus de la Soc. de Biol., 27 juin 1896, p. 663; *De l'action anticoagulante et lymphagogue des injections intra-veineuses de propeptone après l'extirpation des intestins*. Ibidem, 12 décembre 1896, p. 1053.

en déterminant une réaction du foie qui aboutit à la formation dans cet organe d'une substance anticoagulante.

Telles sont les principales propriétés physiologiques connues du sérum d'anguille(1).

Que sait-on de la substance à laquelle il doit ces propriétés? A. Mosso a déjà fait à ce sujet quelques constatations intéressantes : ce sérum, chauffé à 100°, perd sa saveur âcre et en même temps sa toxicité; desséché dans le vide et redissous ensuite, il a conservé sa saveur et son pouvoir toxique; le poison qu'il renferme ne se dissout pas dans l'alcool à 95°.

Ces brèves indications chimiques ont été développées par Ugolino Mosso(2). Ce dernier a constaté que le sérum d'anguille a toujours une réaction alcaline; que sa densité varie entre 1,021 et 1,026; qu'il contient 7,20 à 7,43 % de matières solides et que là-dessus il y a 0,603 % de chlorure de sodium; que la température de 70° détruit l'ichtyotoxique (ce mot a été créé par A. Mosso); que les acides minéraux et organiques le détruisent aussi, et qu'il en est de même des alcalis, soude, potasse ou ammoniaque; si, après action de l'un quelconque de ces corps, on neutralise par un acide, le sérum ne récupère pas son activité; les sels neutres sont au contraire sans effet. D'autre part, la substance toxique ne dialyse pas. La digestion pepsique et la putréfaction la détruisent. Enfin, de quelques autres essais U. Mosso conclut que l'ichtyotoxique n'est pas un ferment, mais une matière albuminoïde, et sans doute une sérine.

C'est à un point de vue tout spécial que nous avions d'abord repris l'étude du sérum d'anguille. Au cours de recherches sur les variations que font subir à l'activité des ferments solubles diverses influences physiques et chimiques(3), il nous avait semblé que le sérum d'anguille subissait également quelques-unes de ces influences. Ces faits nous obligèrent à déterminer exactement la toxicité de ce sérum, injecté dans les veines, et les principaux phénomènes que l'on observe à la suite de ces injections;

(1) Dans ces dernières années il a paru plusieurs travaux sur l'immunisation contre les effets toxiques du sérum d'anguille. Nous en parlerons plus loin.

(2) U. Mosso : *Recherches sur la nature du venin qui se trouve dans le sang de l'anguille.* Arch. ital. de Biol., XII, p. 229—236, 1889.

(3) Nous avons publié quelques-unes de ces recherches. Voyez L. Camus et E. Gley : *Persistance d'activité de la présure à des températures basses ou élevées.* C. R. de l'Acad. des Sc., 26 juillet 1897, p. 256; *Action du sérum sanguin et des solutions de propeptone sur quelques ferments digestifs.* Arch. de Physiol., 5e série, IX, p. 764, 1897; *Influence de la température et de la dilution sur l'activité de la présure.* Ibidem, p. 810.

ces expériences à leur tour nous ont révélé l'action globulicide si intense de ce sérum (1); nous fûmes alors conduits à aborder l'étude du problème de l'immunité par un côté très particulier, par l'étude de l'immunité soit naturelle soit acquise contre cette action si spéciale. — On trouvera dans les pages qui vont suivre l'exposé de toutes ces recherches.

## II. — Technique expérimentale.

Il ne sera sans doute pas inutile, avant d'entrer en matière, de donner quelques indications d'ordre technique sur nos expériences.

Nous avons toujours recueilli le sérum d'anguille de la même façon; une canule en verre, préalablement stérilisée, est introduite dans l'aorte d'une anguille et on reçoit le sang dans de petits tubes de verre stérilisés; par ce mode de faire on obtient plus de sang que par le procédé brutal, généralement employé, et qui consiste à sectionner la tête ou la queue de l'animal et à recueillir le sang s'écoulant de la blessure (2). La quantité obtenue peut être encore plus grande si on a le soin, alors que l'artère ne fournit presque plus de sang, d'exercer tout le long du corps de l'anguille des pressions méthodiques, de l'extrémité inférieure vers la tête.

On peut laisser simplement les tubes pleins de sang à la température du laboratoire; au bout de quelques heures on a un sérum clair; on peut aussi soumettre le sang à l'action de la force centrifuge, et l'on obtient ainsi une quantité un peu supérieure de sérum.

En opérant de cette façon, nous avons toujours eu d'assez grandes quantités de sérum clair, que nous avons conservé pendant longtemps à l'abri de la lumière sans qu'il perdît rien de son activité (3). Voici un tableau qui montre les résultats de notre manière de faire :

---

(1) L. Camus et E. Gley : *De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale. Immunisation contre cette action.* Acad. des Sc., 31 janvier 1898, p. 428.

(2) J. Héricourt et Ch. Richet (Soc. de Biol., 23 janvier 1897, p. 74) ont indiqué comme étant la meilleure manière de se procurer du sang d'anguille le procédé qui consiste à introduire une pipette directement dans le cœur. Mais c'est un mode opératoire encore assez défectueux, surtout en ce qu'il fait toujours perdre un peu de sang.

(3) C. Maglieri (*Sull'azione tossica, immunizzante e battericida del siero di sangue di anguilla.* Annali d'Igiene sperimentale, N. S., VII, p. 191—214, 1897.) prétend que la toxicité du sérum d'anguille va en s'atténuant à partir du 8e jour qui suit son prélèvement, même s'il a été recueilli aseptiquement et s'il est conservé dans un lieu frais et obscur. Nos expériences ne nous permettent pas de confirmer ce fait.

| Anguilles | Poids. | Quantité de sang recueilli par l'aorte. | Quantité de sérum obtenu. |
|---|---|---|---|
| No 1 | 310 gr. | 4,2 c.c. | 1,8 c.c. |
| No 2 | 322 | 5,4 | 3,1 |
| No 3 | 350 | 4,5 | 2,25 |
| No 4 | 395 | 6,7 | 4 |
| No 5 | 445 | 6,9 | 3,4 |
| No 6 | 500 | 7,2 | 4,45 |
| No 7 | 500 | 8,15 | 4,85 |
| No 8 | 523 | 7,4 | 3,9 |
| No 9 | 530 | 8,8 | 4,7 |
| No 10 | 540 | 7,7 | 3,4 |
| No 11 | 550 | 5,35 | 2,5 |
| No 12 | 600 | 8,9 | 4,1 |
| No 13 | 660 | 7,9 | 4,6 |
| No 14 | 1050 | 16,6 | 9,2 |
| No 15 | 1055 | 16 | 8 |
| No 16 | 1250 | 14,8 | 6,4 |

Le sérum ainsi recueilli est la plupart du temps d'une belle coloration bleu-verdâtre, quelquefois jaunâtre; dans ce dernier cas il nous a toujours paru moins toxique.

Nous nous sommes servis de ce sérum dilué au dixième dans l'eau salée bouillie (à 8 °/₀₀ de chlorure de sodium) en injection intra-veineuse. C'est, on le sait, par ce procédé seulement que l'on est absolument sûr d'employer les quantités que l'on veut de substance toxique et de les faire agir dans des conditions toujours identiques et dans le même laps de temps. — Dans quelques expériences d'immunisation pourtant, nous avons eu recours à l'injection intra-péritonéale; nous aurons soin d'indiquer ces exceptions en temps et lieu.

Nous avons quelquefois employé du sérum conservé à l'état sec, après dessèchement sous le vide et l'exsiccateur à acide sulfurique. La dilution de ce sérum s'est montrée aussi active que le sérum en nature.

Les animaux utilisés ont été le lapin, le cobaye et le hérisson *(Erinaceus europæus)*. Sur le lapin les injections étaient faites dans une veine marginale de l'oreille; sur le cobaye et le hérisson dans une veine jugulaire.

# PREMIÈRE PARTIE.

## I. — Action toxique générale du sérum d'anguille. Distinction de deux formes d'intoxication.

Toutes nos observations concernant la toxicité du sérum d'anguille sont faites sous la réserve que l'on rencontre quelquefois des animaux qui résistent plus que d'autres à l'action de ce poison.

### 1° DESCRIPTION DES DEUX FORMES D'INTOXICATION.

Quand la dose de sérum injecté est assez forte, elle amène rapidement la mort en quelques minutes, avec prédominance, chez le lapin comme chez le cobaye, d'accidents convulsifs. Mais quand la dose est plus faible, ou bien encore, ce qui revient au même, quand le sérum employé est naturellement peu toxique(1), il se développe, au lieu d'accidents convulsifs, des phénomènes paralytiques, et la mort n'arrive que plus tardivement.

Nous réunissons dans les deux tableaux suivants des exemples de ces deux sortes d'intoxications(2).

*Expériences sur les lapins.* — Les cas relatés dans le tableau ci-dessous concernent des animaux morts rapidement avec des accidents surtout convulsifs, tels que mouvements brusques et violents de propulsion, convulsions cloniques, et avec des troubles soudains de la respiration (dyspnée, arrêt des mouvements respiratoires).

---

(1) Il y a des différences de toxicité entre les sérums provenant de diverses anguilles. Récemment WEHRMANN (*Recherches sur les propriétés toxiques et antitoxiques du sang et de la bile des anguilles et des vipères.* Annales de l'Institut PASTEUR, XI, p. 810, 1897.) a encore attiré l'attention sur ce fait. « Le sérum d'anguille, dit-il, recueilli à diverses époques de l'année, ou bien d'anguilles de différentes provenances, n'a pas la même valeur toxique. Chaque fois que l'on fait une nouvelle provision de sérum il faut déterminer sa toxicité » (p. 815).

(2) Nous avons indiqué déjà cette distinction dans une note préliminaire (L. CAMUS et E. GLEY : *De la toxicité du sérum d'anguille pour des animaux d'espèce différente, Lapin, Cobaye, Hérisson.* Soc. de Biologie, 29 janvier 1898, p. 129). Dans la même séance de la Société de Biologie, p. 137, HÉRICOURT et RICHET ont signalé brièvement ce fait, que les chiens qui ont reçu plusieurs injections de sérum d'anguille, finissent par dépérir et mourir cachectiques. De son côté, H. KOSSEL (Berl. klin. Wochenschr., 14 février 1898) dit que l'injection d'une dose d'ichtyotoxique qui n'amène pas la mort rapidement, produit un empoisonnement chronique ; au bout de quelques jours les animaux ont subi une forte perte de poids, ils sont parésiés et finissent par mourir.

TABLEAU I.

| Lapins | Poids en gr. et sexe | Quantité de sérum injecté en c.c. | Accidents | Mort en | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1030 ♀ | 0,2 | Agitation, myosis, convulsions. | 7 minutes. | |
| 2 | 1570 ♂ | 0,32 | Convuls. tardives. | 25—30 minutes. | Sérum peu toxique, à très faible action globulicide, sans action myotique. |
| 3 | 1590 ♀ | 0,4 | Convuls. violentes | 3—4 minutes. | Même sérum que le nº 2, mais l'animal, de même poids, reçoit 0,08 c.c. de plus. |
| 4 | 1685 ♀ | 0,7 | Contractions générales, opisthotonos, myosis, salivation, hématurie. | 3—4 minutes. | Sérum peu toxique, globulicide cependant, n'amenant la mort que lentement (v. nº 3 du tableau II) avec la moitié de cette dose, alors que d'habitude le sérum tue en quelques minutes à la dose de 0,1 c.c. à 0,2 c.c. par kgr. |
| 5 | 1830 ♀ | 0,2 | Convulsions. | 3 minutes. | |
| 6 | 1860 ♀ | 0,2 | Id. | 4 minutes. | |
| 7 | 1870 ♂ | 0,2 | Id. | 4 minutes. | |
| 8 | 1880 ♂ | 0,2 | Accidents habituels | 6 minutes. | L'animal avait reçu, 1/2 h. avant, 145 c.c. d'une solution hyperisotonique de chlorure de sodium (3 % NaCl). |
| 9 | 1910 ♂ | 0,3 | Id. | 5 minutes. | |
| 10 | 2120 ♀ | 0,2 | Id. | 2 min. 30 sec. | Le sérum avait été mélangé avec 5 c.c. d'une solution à 3 % de chlorure de sodium. |
| 11 | 3290 ♀ | 0,3 | Id. | 3 minutes. | |

Dans un deuxième tableau nous plaçons les lapins dont la mort a été plus tardive, et chez lesquels ont prédominé les accidents paralytiques, soit que la dose injectée ait été plus faible, soit que le sérum employé ait été naturellement moins toxique; dans quelques-uns de ces cas cependant, on voit survenir, mais assez longtemps après l'injection, des phénomènes d'excitation neuro-musculaire, caractérisés par des secousses fibrillaires dans différents muscles et quelquefois même des secousses convulsives.

TABLEAU II.

| Lapins | Poids en gr. et sexe | Quantité de sérum injecté en c.c. | Accidents | Mort en | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 850 ♀ | 0,3 | Agitation, myosis. | plusieurs heures. | |
| 2 | 920 ♀ | 0,15 | Dyspnée, myosis, affaissement, hématurie. | 10 h. environ. | |
| 3 | 1250 ♂ | 0,2 d'abord, puis, 22 min. après, même dose. | Myosis, paraplégie, anesthésie du train postérieur. | 2 h. environ. | Sérum qui produit d'emblée des convulsions à dose double (voyez nº 4 du tableau I). |
| 4 | 1450 ♀ | 0,4 | Paraplégie, contractions fibrillaires, hématurie. | 12 h. environ. | Même observation. |

TABLEAU II (*suite*).

| Lapins | Poids en gr. et sexe | Quantité de sérum injecté en c.c. | Accidents | Mort en | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 1590 ♀ | 0.1 | Abattement. | 11 heures. | A l'autopsie, sérosité sanguinolente dans le péritoine ; l'urine de la vessie contient de l'hémoglobine. |
| 6 | 1660 ♂ | 0.15 | Injection irienne, salivation, larmoiement, paraplégie. | plus de 1 heure. | Myosis persistant après la mort. Foie et reins très congestionnés; sang dans le péritoine; l'urine de la vessie contient de l'hémoglobine. |
| 7 | 1940 ♂ | 0,2 | Parésie, salivation, troubles respirat. | 43 minutes. | |
| 8 | 2070 ♂ | 0,2, puis 43 m. après 0,05. | Dyspnée, salivat., myosis, hématurie, parésie. | 12 h. environ. | |
| 9 | 2170 ♂ | 0,3 | Affaissement, salivation, respiration très ralentie, convuls. au moment de la mort. | 1 h. 13 minutes. | |
| 10 | 2260 ♂ | 0,1 | Myosis, hémoglobinurie, paralysie, dyspnée, mouvements convulsifs secondaires. | 3 h. 10 minutes. | A l'autopsie, péritoine et vessie pleins de sang liquide; reins congestionnés. |

*Expériences sur les cobayes.* — Les deux tableaux ci-dessous sont analogues aux précédents.

TABLEAU III.

| Cobayes | Poids en gr. et sexe | Quantité de sérum injecté en c.c. | Accidents | Mort en |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 187 ♂ | 0,016 | Troubles respirat., agitation. | 9—10 minutes. |
| 2 | 217 ♀ | 0,02 | Paralysie après agitation. | 13 minutes. |
| 3 | 220 | 0,016 | Cris, paraplégie, dyspnée. | 12 minutes. |
| 4 | 220 ♀ | 0,01 | Cris, agitation. | 7 minutes. |
| 5 | 226 ♀ | 0,02 | | 8 minutes. |
| 6 | 235 ♂ | 0,02 | | 4 m. 30 sec. |
| 7 | 240 | 0,016 | Cris, chute, dyspnée. | 6 minutes. |
| 8 | 240 ♂ | 0,01 | Convuls., paralysie. | 21 minutes. |
| 9 | 254 ♂ | 0,016 | Cris, dyspnée. | 3 minutes. |
| 10 | 270 ♂ | 0,02 | | 4 minutes. |
| 11 | 350 ♂ | 0,02 | Convulsions. | 7—8 minutes. |
| 12 | 350 ♂ | 0,025 | id. | 13 minutes. |
| 13 | 375 ♀ | 0,065 | Convulsions, arrêt brusque de la respiration. | 3 minutes. |
| 14 | 390 ♂ | 0,05 | Convulsions. | 3 min. 30 sec. |

TABLEAU III (*suite*).

| Cobayes | Poids en gr. et sexe | Quantité de sérum injecté en c.c. | Accidents | Mort en |
|---|---|---|---|---|
| 15 | 395 ♀ | 0,02 | Agitation, puis paralysie. | 20 minutes. |
| 16 | 400 ♀ | 0,03 | Accid. convulsifs. | 6 minutes. |
| 17 | 405 ♀ | 0,04 | Convulsions, puis paraplégie. | 7 min. 30 sec. |
| 18 | 410 ♂ | 0,02 | Cris, dyspnée, paralysie généralisée, salivation. | 8 minutes. |
| 19 | 445 ♂ | 0,02 | Convulsions, puis paralysie. | 20 minutes. |
| 20 | 450 ♀ | 0,05 | Agitation, convuls. | 2 minutes. |
| 21 | 462 ♂ | 0,02 | Convulsions. | 4 minutes. |
| 22 | 475 ♀ | 0,08 | Convulsions, arrêt de la respiration. | 3 min. 30 sec. |
| 23 | 540 ♀ | 0,01 | Convulsions. | 2 minutes. |
| 24 | 540 ♀ | 0,02 | Paralysie presque immédiate. | 6 minutes. |
| 25 | 575 ♀ | 0,05 | Dyspnée, larmoiement, mouvements convulsifs. | 6 minutes. |
| 26 | 590 ♂ | 0,05 | Convulsions, arrêt respiratoire. | 2 minutes. |
| 27 | 590 ♂ | 0,1 | Arrêt de la respirat. | 1 minute. |

TABLEAU IV.

| Cobayes | Poids en gr. et sexe | Quantité de sérum injecté en c.c. | Accidents | Mort en | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 232 ♂ | 0,015 | Chute, cris, abattement. | 23 heures. | Poids (au moment de la mort) = 190 gr. |
| 2 | 256 ♂ | 0,016 | Cris, paraplégie, secousses convulsiv., puis rémission. | 46 heures | Poids (au moment de la mort) = 175 gr. |
| 3 | 257 ♀ | 0,01 | | 3 jours et quelques heures. | |
| 4 | 257 ♀ | 0,01 | Tremblements. | 36 h. environ. | |
| 5 | 374 ♀ | 0,01 | Accidents paralytiques, puis convulsifs par périodes, et secousses fibrillaires. | 24 heures | A l'autopsie, foie congestionné, bile dans le duodénum, vésicule bilaire très distendue. |
| 6 | 400 ♀ | 0,02 | Paralysie, dyspnée, convulsions. | 40 minutes. | |
| 7 | 432 ♀ | 0,02 | Abattement, salivation, contractures. | 36 h. environ. | |
| 8 | 440 ♀ | 0,02 | Paralysie, puis convulsions. | 40 minutes. | |
| 9 | 480 ♀ | 0,02 | | 36 h. environ. | |
| 10 | 480 ♂ | 0,01 | Tremblements fibrillaires et parésie. | 14 jours. | |
| 11 | 500 ♀ | 0,02 | Paralysie, salivat., secousses musculaires. | 30 heures. | |
| 12 | 540 ♀ | 0,02 | Tremblem. fibrillaires, paralysie, salivation, convulsions secondaires. | 24 h. 30 min. | Poids (au moment de la mort, = 305 gr. |

Ainsi, d'une façon générale, à dose forte, 0,1 c.c.—0,15 c.c. par kil. pour le lapin et 0,07 c.c.—0,08 c.c. par kil. pour le cobaye, le sérum d'anguille détermine une excitation du système nerveux caractérisée par des phénomènes convulsifs, et l'animal meurt rapidement au milieu de ces convulsions ou dans une courte phase de paralysie généralisée avec arrêt respiratoire, précédant la mort du cœur, c'est-à-dire avec prédominance des accidents bulbaires. — Quand on dépasse cette dose, les accidents restent les mêmes (à cette réserve près que, chez le cobaye quelquefois, il y a suppression soudaine de toutes les activités nerveuses, chute brusque de l'animal et mort avant que les convulsions aient eu le temps de se produire), les phénomènes convulsifs ne sont pas plus intenses et la mort n'est très généralement pas plus rapide. Cela se conçoit aisément; dès que la dose mortelle est atteinte, l'augmentation de cette dose ne peut être d'aucun effet.

A dose plus faible, ou s'il s'agit d'un sérum moins toxique (il y a d'assez grandes variations de toxicité entre les sérums), ce sont les accidents paralytiques qui surviennent d'abord, après un peu d'agitation; l'animal peut rester dans cet état jusqu'à sa mort; mais d'autres fois il se produit secondairement des phénomènes convulsifs, secousses fibrillaires dans les masséters et dans d'autres muscles, rappelant de très près celles que l'on observe à la suite de la thyroïdectomie chez le lapin, ou même convulsions cloniques ou contractures, après lesquelles meurt l'animal. C'est au cours de cette intoxication plus lente que l'on voit souvent s'établir la salivation et le larmoiement. Ici encore se manifeste l'intoxication du bulbe, mais la moelle est fortement atteinte aussi. — Dans cette forme lente, le poids de l'animal diminue beaucoup et très rapidement, même quand il peut s'alimenter. D'habitude, il est vrai, il ne mange pas; mais la perte de poids qui se produit, par exemple, en 24 heures, dépasse notablement celle qui se produirait par la simple inanition.

A l'autopsie, on trouve dans l'un et l'autre cas, mais plus marquées naturellement dans le second, des congestions viscérales diverses, des poumons, du foie, des reins, des capsules surrénales; la vésicule biliaire distendue, ce qui pourrait indiquer une augmentation de la sécrétion biliaire; la vessie contenant de l'urine sanguinolente, etc.; nous avons constaté dans ces urines la présence de nombreux cylindres granuleux et de globules rouges. Les altérations du parenchyme rénal, très graves, ont été spécialement étudiées sur quelques-uns de nos animaux par A. PETTIT (1).

(1) A. PETTIT : *Altérations rénales consécutives à l'injection de sérum d'anguille.* Comptes rendus de la Soc. de Biol., 19 mars 1898, p. 320.

Même quand la mort est très rapide, se produisant en quelques minutes, PETTIT a pu trouver ces lésions; dans un cas où l'animal (cobaye) n'avait survécu que trois minutes et demie à l'injection de sérum, les cellules des tubes contournés avaient subi la dégénérescence hyaline, le corps cellulaire avait sensiblement augmenté de volume et offrait un aspect clair anormal; quand l'animal survit quelques heures, les altérations sont très intenses; chez un lapin, par exemple, qui survit 3 heures à l'injection de 0,1 c.c. de sérum, les pièces ayant été, comme d'habitude, prélevées immédiatement après la mort, « il n'existe pas, pour ainsi dire, de tube contourné qui ne renferme des cellules claires; celles-ci se présentent comme des éléments hyalins dans leurs parties centrales et de dimension anormale; elles font saillie dans la lumière canaliculaire qu'elles obstruent complètement; la plupart ne possèdent d'ailleurs pas de limites distinctes. Du côté des tubes droits, on note également des altérations profondes : certains canalicules sont encore tapissés par un épithélium normal; mais dans un certain nombre de ceux-ci, les cellules épithéliales se continuent insensiblement avec une masse compacte, granuleuse, obstruant la lumière; dans d'autres tubes, la dégénérescence est encore plus accusée, et tout se réduit à un magma granuleux, remplissant la lumière canaliculaire et présentant à sa surface quelques noyaux altérés; on compte en moyenne un dixième de tubes ainsi remplis de cylindres » (A. PETTIT, loc. cit.). L'auteur a soin d'attirer l'attention sur la rapidité extrême avec laquelle peuvent se produire ces altérations; ce fait concorde avec l'apparition souvent si rapide (quelques minutes), que nous avons notée, de l'hémoglobine dans les urines. — Dans le système nerveux il doit se produire des altérations non moins importantes des éléments cellulaires. L'étude en a été récemment commencée par A. WESTPHAL, d'après des préparations de la moelle (renflement cervical), faites suivant la méthode de NISSL, et provenant d'animaux ayant servi à des expériences de H. KOSSEL, dont il sera question plus loin; les résultats des observations de WESTPHAL sont brièvement rapportés par KOSSEL(1); les modifications cellulaires constatées sont d'une façon générale analogues à celles que GOLDSCHEIDER et FLATAU ont décrites dans le tétanos.

2° SUPPRESSION DE LA TOXICITÉ DU SÉRUM D'ANGUILLE PAR LE CHAUFFAGE.

Ce sérum si toxique perd aisément cette propriété par le chauffage à 58° pendant un quart d'heure seulement(2). Injectons-le, ainsi chauffé,

(1) H. KOSSEL : *Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung*. Berl. klin. Wochenschr., 14 février 1898.

(2) CALMETTE (*Contribution à l'étude des sérums, des toxines et des sérums antitoxiques*,

à la dose habituellement mortelle; l'animal, cobaye ou lapin, ne présente aucun trouble; avec une dose double il en est de même; avec une dose 10 fois et 50 fois plus forte on n'observe que quelques accidents insignifiants (un peu de mâchonnement, quelques tremblements chez le cobaye); avec une dose 100 fois plus forte, il n'y a aussi que quelques accidents sans gravité : tremblements, légère accélération respiratoire. Cependant, à ces dernières doses, il se produit, dans les jours qui suivent l'injection, une forte diminution de poids, qui doit tenir, il est vrai, en partie au moins, à ce que les animaux, ainsi traités, mangent très peu(1). Exemples :

*Expérience I.* — Cobaye ♂ de 235 gr., injection dans la veine jugulaire droite de 1 c.c.(2) de sérum d'anguille dilué dans 5 c.c. d'eau salée à 7 °/oo, et chauffé à 58° pendant 15 minutes. Tremblements, légère accélération respiratoire; poils hérissés. Les deux jours suivants, très bien portant; le surlendemain le poids n'est que de 187 gr.; l'animal a donc perdu en deux jours 48 gr., soit 20,4 °/o de son poids.

*Expérience II.* — Cobaye ♂, pesant 325 gr. Injection dans la veine jugulaire droite de 1 c.c. de sérum d'anguille chauffé à 58° pendant 15 min. Rien à noter.

Poids de l'animal, 23 heures après = 298 gr.
» » » 45 » » = 284 gr.

La perte de poids en 2 jours a été de 41 gr.

Le troisième jour, nouvelle injection, dans la veine jugulaire gauche, de 1,6 c.c. du même sérum, chauffé à 85° pendant 30 minutes.

Poids de l'animal, 41 heures après = 277 gr.
» » » 3 jours » = 254 gr.

Dans quelques rares cas cependant, nous avons vu le sérum chauffé donner lieu à des accidents immédiats, mais peu durables. Exemple :

---

Annales de l'Institut Pasteur, IX, p. 225—251, 1895.) dit que le sang d'anguille, chauffé à 68° pendant 10 minutes, perd sa toxicité, et Phisalix (*Propriétés immunisantes du sérum d'anguille contre le venin de vipère.* Comptes rendus de l'Acad. des Sc., CXXIII, p. 1305, 28 décembre 1896.) que le sérum de ce sang, chauffé à 58° pendant 15 minutes, n'est plus toxique, mais peut immuniser contre le venin de vipère.

(1) Il est intéressant de rappeler que Phisalix et Bertrand ont remarqué que le venin de vipère chauffé à 75° durant 5 minutes, et qui a perdu par cela même sa toxicité, provoque souvent cependant chez le cobaye « des troubles de nutrition qui se traduisent par un amaigrissement notable »; l'animal succombe même quelquefois à une cachexie lente (Phisalix et Bertrand : *Recherches expérimentales sur le venin de vipère. Atténuation par la chaleur et vaccination contre ce venin.* Arch. de Physiol., 5e série, VI, p. 567—582, 1894.)

(2) *Expérience témoin :* un cobaye, pesant 254 gr., est tué en 3 minutes par une injection intra-veineuse de 0,016 c.c. du même sérum dilué dans 0,5 c.c. d'eau salée.

*Expérience III.* — Cobaye ♂ de 234 gr. Injection en 1 min. 20 sec., dans la veine jugulaire droite, de 0,5 c.c. de sérum d'anguille (provenant d'un mélange de sérum de trois anguilles) chauffé à 58° pendant 15 minutes; à la fin de l'injection, miction, cris, chute sur le flanc; 4 minutes après, l'animal se relève; alors polypnée, dyspnée, tremblements, mâchonnement. Il paraît tout à fait remis 1 heure après.

3° CAUSES DE LA TOXICITÉ.

Quelle est la cause des phénomènes toxiques, à détermination essentiellement bulbaire et médullaire, que provoque le sérum d'anguille? Nous ne connaissons pas encore le principe actif de ce liquide. Cependant les expériences dont il sera longuement question tout à l'heure, relatives à son action dissolvante sur les globules rouges du sang, nous ont forcés à nous demander si la substance globulicide qui y est contenue n'est pas aussi la substance toxique.

Plusieurs raisons nous ont paru plaider en faveur de cette assimilation. En premier lieu, chez les animaux qui présentent naturellement une grande résistance à l'action toxique du sérum, comme le hérisson (voir la seconde partie de ce mémoire, p. 274), les globules rouges ne sont pas détruits. D'autre part, le sérum chauffé perd presque complètement son pouvoir toxique, comme nous l'avons vu, mais il perd du même coup tout pouvoir globulicide (voyez p. 267); c'est ainsi que, alors que 0,01 c.c. suffit souvent pour tuer rapidement un cobaye, 1 c.c. de sérum chauffé à 58° pendant 15 minutes ne détermine pas d'accidents immédiats. Enfin, le sérum d'animaux immunisés, c'est-à-dire qui a acquis des propriétés antitoxiques vis à vis du sérum d'anguille, est en même temps fortement antiglobulicide.

Conclurons-nous que la toxicité est due uniquement à l'action globulicide? Cette conclusion dépasserait sans doute l'expérience. Remarquons d'abord que le sérum chauffé détermine encore quelques légers troubles, à dose très forte, il est vrai. Mais ce qui est plus significatif, c'est que l'on peut rencontrer des sérums assez toxiques et qui pourtant ne possèdent qu'une très faible action globulicide. En voici un exemple :

*Expérience IV.* — Lapin albinos ♀ de 1750 gr. Injection dans la veine marginale de l'oreille droite de 0,32 c.c. de sérum, dilué dans 3 c.c. d'eau salée. Pas de myosis, pas de ralentissement du cœur, pas d'injection irienne; mort au bout de 25—30 minutes, avec des convulsions violentes.

*Expérience V.* — Lapin albinos ♀ de 1590 gr. Injection dans la veine marginale de l'oreille droite de 0,4 c.c. de sérum de la même anguille, dilué dans 1 c.c. d'eau salée. Pas de myosis, pas de ralentissement du

cœur, pas d'injection irienne; convulsions violentes, mort en 3 ou 4 minutes.

Or, ce sérum, à peu près une fois moins toxique que ne l'est habituellement le sérum d'anguille, n'était presque pas globulicide; à 1/500 en effet il ne produisait plus de diffusion de l'hémoglobine et à 1/100 il n'en produisait qu'une très légère; il fallait aller jusqu'à 1/50 pour obtenir une diffusion marquée; il était donc 100 fois moins globulicide que la plupart des sérums (fortement globulicides encore à la dilution 1/10000).

On voit donc qu'il peut y avoir des sérums assez toxiques encore, quoique peu globulicides. L'inverse, il est vrai, ne se constate pas; nous n'avons jamais eu de sérums normalement globulicides qui ne fussent extrêmement toxiques.

Ces faits suffisent néanmoins pour montrer que l'action toxique du sérum d'anguille peut être en quelque mesure, en faible mesure cependant, dissociée de l'action globulicide. Ce n'est même là peut-être qu'une apparence. Car si l'on se rappelle que les injections sous-cutanées de ce sérum amènent des abcès par nécrose (1), qu'elles produisent des altérations destructives des reins, comme on l'a vu plus haut, et sans doute aussi d'autres parenchymes glandulaires, qu'elles dissolvent les globules blancs (2) aussi bien que les globules rouges, on peut se demander si la toxicité de ce poison n'est pas liée à son action destructive, et qui paraît générale, sur les éléments anatomiques. De telle sorte que cette toxicité tiendrait, d'une part, à la mise en liberté, dans le milieu sanguin, de diverses substances (ferments ou autres) provenant de la dissolution d'une grande quantité de globules rouges et de globules blancs et sans doute aussi d'autres éléments cellulaires, et, d'autre part, très vraisemblablement, à la suppression brusque, par altération destructive de leur protoplasma, des fonctions de beaucoup de cellules nerveuses (3).

## II. — Action physiologique du sérum d'anguille.

### 1° ACTION SUR LE SANG.

Nous ne nous occuperons pas de l'action du sérum sur la coagulabilité du sang. Le fait de l'incoagulabilité, consécutif aux injections intra-veineuses

(1) WEHRMANN (loc. cit.) a encore attiré récemment l'attention sur ce fait.

(2) Des expériences récentes de C. DELEZENNE (*Action leucolytique des agents anti-coagulants du groupe de la peptone*. Arch. de Physiol., 5e série, X, p. 508—521, 1898) ont montré que le sérum d'anguille détruit les globules blancs.

(3) Voir à ce sujet ce que nous disons plus haut (p. 257) des observations de WESTPHAL.

de ce sérum, trouvé par A. Mosso, a été bien étudié par DELEZENNE (voyez p. 248).

1. ACTION GLOBULICIDE DU SÉRUM D'ANGUILLE. — C'est d'une action non signalée jusqu'à présent que nous voulons parler. Nous avons en effet constaté que le sérum d'anguille possède une puissante action dissolvante sur les globules rouges.

On sait depuis longtemps déjà que le sérum du sang d'une espèce animale détruit les globules du sang d'une autre espèce, c'est-à-dire, suivant une expression communément employée, qu'il est globulicide pour ce dernier sang(1). Or, nous avions observé que, à la suite de l'injection intra-veineuse de sérum d'anguille, très rapidement, dans un grand nombre de cas, l'iris devient rouge et il se produit une hémorrhagie nasale et de l'hémoglubinurie; si on recueille du sang artériel et qu'on le soumette à l'action de la force centrifuge, le sérum présente une coloration rouge très intense, due à l'hémoglobine dissoute. De plus, et nous avons déjà signalé ce fait dans les tableaux reproduits plus haut, on trouve souvent dans la vessie une urine sanguinolente, contenant des globules rouges et de l'hémoglobine dissoute; nous avons également trouvé maintes fois une abondante sérosité sanguinolente dans le péritoine et même du sang en nature extravasé en assez grande quantité(2). Tous ces faits concordent pour montrer que le sérum d'anguille détruit aisément les globules rouges.

Pour déterminer l'intensité de cette action, nous avons eu recours à la méthode bien connue de HAMBURGER, en utilisant le procédé de A. MOSSO-G. VIOLA(3); nous avons par conséquent évalué la résistance

(1) Nous nous contenterons de rappeler les travaux déjà anciens, que l'on trouve cités dans toutes les études générales sur le sang, de A. CREITE (1869), de A. ROLLETT (1870) de L. LANDOIS (1874), de G. HAYEM (1889). Plus récemment, G. DAREMBERG (*Sur le pouvoir destructeur du sérum sanguin pour les globules rouges.* Soc. de Biol., 24 octobre 1891, p. 719) a repris l'étude de ce fait et montré que ce pouvoir globulicide est complètement aboli par le chauffage à 50—60° pendant 25—30 minutes.

(2) A. MOSSO (loc. cit.) rapporte les observations de deux cobayes empoisonnés par le sérum d'anguille, à l'autopsie desquels il trouva dans la cavité abdominale un peu de sérosité sanguinolente avec des globules rouges.

(3) H. J. HAMBURGER : *Ueber den Einfluss chem. Verbindungen auf Blutkörperchen im Zusammenhang mit ihren Molecular-Gewichten.* Arch. f. Anat. und Physiol., physiol. Abth., 1886, S. 476 ; *Die Permeabilität der rothen Blutkörperchen im Zusammenhang mit den isotonischen Coefficienten.* Zeitschr. f. Biol., XXVI, S. 414, etc. — A. MOSSO : *Alterazioni dei corpuscoli rossi e coagulazione del sangue.* Atti del R. Accad di Torino, mars 1887. — G. VIOLA : *Alcune note intorno all' isotonia dei corpuscoli rossi dell' uomo in condizioni fisiologiche e patologiche.* Gazz. degli Ospitali, 1894, n° 12.

des globules rouges d'un animal donné dans des solutions de sel marin à des titres divers, en appréciant la résistance par ce fait que les globules laissent plus ou moins facilement diffuser leur matière colorante. Nos expériences ont toujours été faites de la façon suivante : dans des tubes à essai, qu'il faut avoir soin de laver soigneusement avec de l'eau distillée et de stériliser ensuite, nous mettons 5 c.c. des solutions employées de chlorure de sodium et nous y faisons tomber une goutte de sang, pris aseptiquement dans l'artère carotide ou dans la fémorale; tous les tubes sont laissés dans le laboratoire; ils ont été quelquefois placés à l'abri de la lumière, mais nous avons reconnu que cette condition ne paraît pas exercer d'influence sur le phénomène étudié. On jugeait de la diffusion de l'hémoglobine, 16 et 24 heures plus tard, par la coloration de la solution saline.

Prenons donc une série de solutions de sel marin, à des titres variant de 0,48 gr. à 0,70 gr. °/₀. On sait que chez le lapin la résistance globulaire correspond en général à des solutions de chlorure à 0,58 gr.—0,60 gr. °/₀. Nous avons ainsi dans cette série des solutions nettement hypoisotoniques et d'autres fortement hyperisotoniques.

*Expérience VI.* — Lapin albinos ♀ de 3350 gr. Prise de sang carotidien. On fait tomber une goutte de ce sang dans tous les tubes ci-dessous, dans lesquels a été préalablement introduite une goutte de sérum d'anguille dilué de telle façon que, dans les solutions salines employées, cette dilution fût à des titres variant de un millième à un dix-millième.

| Tubes témoins en gr. | | Tubes contenant du sérum à 1/1000 en gr. | |
|---|---|---|---|
| 0.48 NaCl °/o | Diffusion très nette après 16 heures. | 0,54 NaCl °/o | Diffusion égale après 16 heures. |
| 0,50 | | 0,58 | |
| 0,52 | | 0,60 | |
| 0,54 | | 0,62 | |
| 0,56 | Diffusion très faible. | 0,64 | |
| 0,58 | | 0,66 | |
| 0,60 | Pas de diffusion. | 0 68 | |
| 0,62 | | 0,70 | |
| 0,64 | | | |

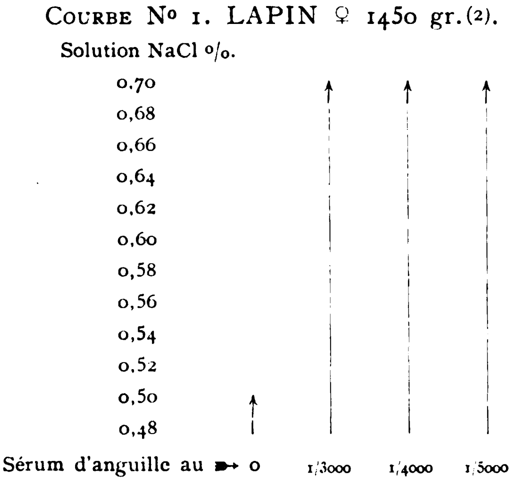
Même diffusion a été constatée dans des séries de tubes identiques, mais contenant du sérum aux titres de 1/4000, 1/6000, 1/8000 et 1/10000.

Dans d'autres expériences, avec différents sérums, nous avons vu que l'action globulicide se produit encore quand le sérum est dilué à 1/15000 et même à 1/20000.

Nous pouvons représenter graphiquement ce phénomène en dressant des courbes d'une lecture simple et facile; sur la ligne des ordonnées sont inscrits les titres des solutions salines employées, sur la ligne des abscisses

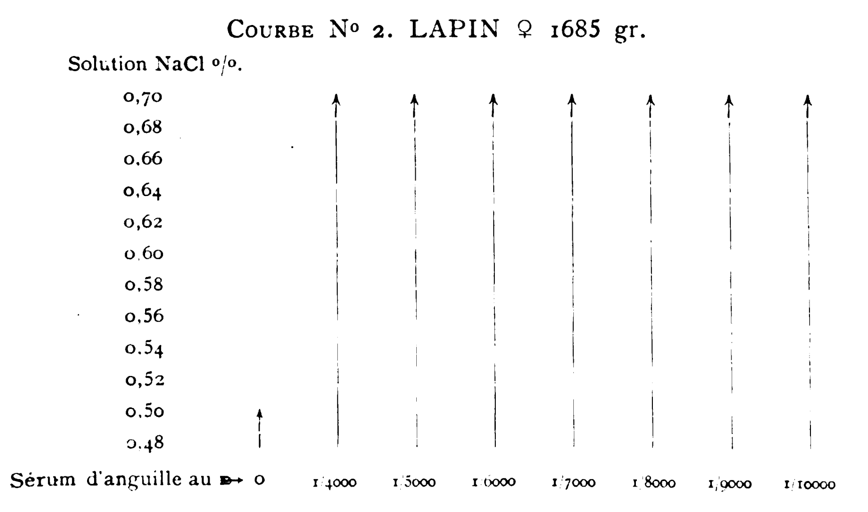
les titres des dilutions de sérum; un trait noir vertical(1), s'élevant plus ou moins haut, indique dans quels tubes la diffusion de l'hémoglobine a eu lieu, et par conséquent l'intensité du phénomène; celui-ci était constaté, nous l'avons déjà dit, 16 et 24 heures après l'introduction dans les tubes de la goutte du sang dont on voulait apprécier la résistance globulaire. Voici, par exemple, deux de ces courbes :

Courbe N° 1. LAPIN ♀ 1450 gr.(2).




On voit que la première ligne de cette courbe indique que, dans les tubes où il n'a pas été mis de sérum d'anguille, la diffusion ne s'est faite que dans les solutions à 0,48 et 0,50 de chlorure; les lignes suivantes montrent au contraire que, dans les tubes où on a introduit du sérum à 1/3000, 1/4000, 1/5000, la diffusion s'est produite également dans tous et jusque dans les solutions à 0,70 de chlorure.

Courbe N° 2. LAPIN ♀ 1685 gr.



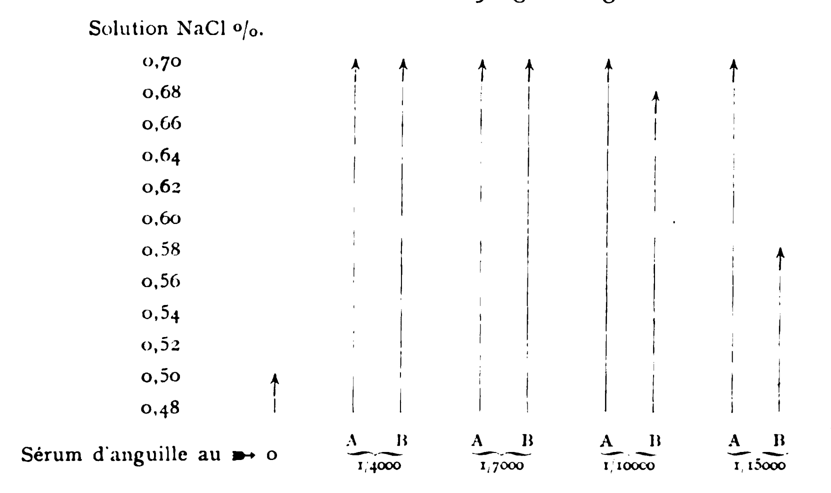

---

(1) On pourrait remplacer ces traits noirs par des traits rouges plus ou moins foncés suivant l'intensité de la coloration et même, plus exactement, suivant la quantité d'hémoglobine dissoute.

(2) Nous désignerons par cette brève indication l'animal qui a donné le sang servant aux expériences d'isotonie.

Tous les sérums n'ont naturellement pas une égale activité. Nous choisissons, parmi nos expériences, un exemple de différence d'activité entre deux sérums recueillis le même jour, celui de l'anguille A et celui de l'anguille B (voyez la courbe n° 3) :

COURBE N° 3. LAPIN ♀ 1590 gr. Sang carotidien.




Cette action dissolvante est donc extrêmement intense. Nous avons cependant rencontré quelques sérums qui la possédaient à un moindre degré : l'un, par exemple, globulicide à 1/3000, ne l'était plus à partir de 1/5000; un autre, beaucoup moins actif encore, ne déterminait plus de diffusion à partir de la dilution à 1/500; mais c'est le seul que nous ayons trouvé relativement aussi faible.

Les mêmes expériences faites avec du sang de cobaye ont donné des résultats identiques. Cependant, d'après quelques expériences comparatives, il nous a semblé que les globules du lapin sont encore moins résistants que ceux du cobaye.

Nous verrons plus loin que le sang d'un Insectivore, le Hérisson, se comporte au contraire tout différemment et offre une grande résistance à l'action globulicide du sérum d'anguille.

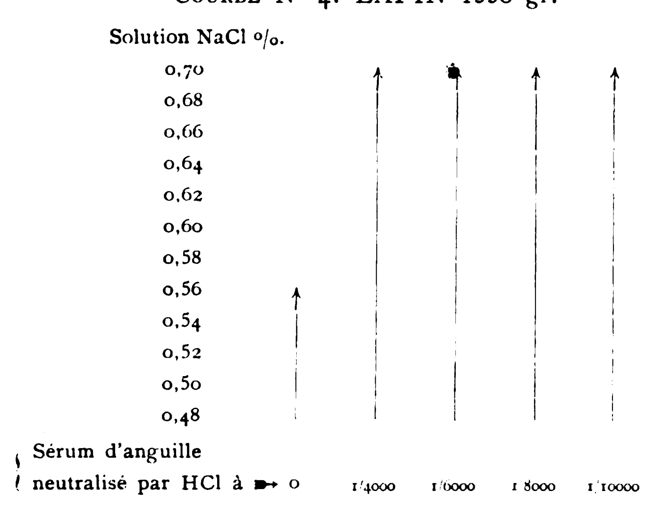
2. INFLUENCES QUI MODIFIENT CETTE ACTION GLOBULICIDE. — A) ***Influence des variations de l'équilibre osmotique.*** — Le titre de la solution saline employée dans les expériences d'isotonie a-t-il quelque influence sur le phénomène que nous étudions? On a vu que, dans des solutions nettement hyperisotoniques, à 0,70 gr. % NaCl, l'action globulicide se produit aussi bien que dans des solutions isotoniques, même quand le sérum est très dilué, à 1/10000, par exemple. Néanmoins, quand on arrive à la limite de l'action,

il semble bien que le titre de la solution saline (voir courbe n° 3, action du sérum B) prenne quelque importance.

Cette réserve faite, on peut penser que l'action dont il s'agit est une action chimique qui s'exerce à peu près indépendamment des phénomènes physiques que mettent en jeu les expériences d'isotonie. Dans nos recherches, en effet, des quantités presque infinitésimales de matière, et en elles-mêmes et par rapport au volume des solutions isotoniques, suffisent à modifier très profondément le globule. Il y a là une preuve certaine que les lois physiques relatives à l'équilibre osmotique d'un élément cellulaire ne s'appliquent qu'autant que n'intervient aucune influence chimique susceptible d'agir sur cette cellule.

B) *Influence de la réaction.* — Le sérum d'anguille est fortement alcalin. Nous nous sommes demandés si en le neutralisant on ne modifierait pas son pouvoir globulicide. Les essais que nous avons faits dans ce but se sont montrés négatifs; neutralisé par de l'acide chlorhydrique, le sérum ne perd rien de ce pouvoir, comme le prouve la courbe ci-dessous :

COURBE N° 4. LAPIN 1350 gr.




c) *Influence de divers agents chimiques.* — On pouvait penser que d'autres influences chimiques agiraient plus efficacement. Nous avons essayé dans ce but divers produits de décomposition des matières albuminoïdes, la leucine et la tyrosine, et quelques liquides organiques, sérum d'autres animaux, bile de chien, de cobaye et d'anguille.

*Action de la leucine et de la tyrosine.* — Le choix des premières substances, leucine et tyrosine, n'était pas sans raisons. Au cours de recherches sur

les ferments digestifs(1), nous avions cru remarquer dans quelques expériences que ces substances empêchent l'action de la présure; c'était là une interprétation erronée du résultat d'expériences dans lesquelles, comme nous le reconnûmes bientôt, l'activité de la présure se trouvait diminuée ou supprimée simplement par l'eau distillée. Néanmoins, comme pour d'autres motifs encore nous étions portés à rapprocher l'action du sérum d'anguille d'une action de ferment, cette interprétation passagère nous conduisit à rechercher si la leucine et la tyrosine n'exercent pas quelque influence empêchante sur le pouvoir globulicide. Nous vîmes qu'il n'en est rien. Ces corps étant très peu solubles dans l'eau, nous avons employé des solutions saturées à 100°, dont nous faisions tomber une goutte dans les 5 c.c. de solution saline servant aux expériences d'isotonie, comme il a été indiqué plus haut; or, dans ces conditions, les dilutions de sérum même au 1/10000 se sont montrées aussi actives que dans les tubes témoins (sans leucine ou tyrosine).

*Action de la bile.* — La bile n'a pas plus d'action, celle de l'anguille même ou du cobaye, comme celle du chien, à la dose de 1 ou 2 gouttes pour les 5 c.c. des solutions servant aux essais, et cela vis à vis du sérum très dilué, à 1/10000, par exemple.

Remarquons à ce propos que la bile par elle-même ne manifeste pas d'action globulicide dans ces conditions, contrairement à ce que l'on pourrait croire. On admet en effet que la bile détruit les globules sanguins. Aux doses auxquelles nous l'avons employée, c'est-à-dire à des doses très fortes, étant donné que dans nos tubes il n'y a qu'une goutte de sang, nous n'avons rien constaté de tel. Dans quelques cas cependant, nous avons neutralisé de la bile d'anguille (trouvée légèrement acide au papier de tournesol), et nous avons alors observé que cette bile ainsi traitée détermine une diffusion marquée de l'hémoglobine. Ce fait servirait peut-être à expliquer la différence entre l'action de la bile *in vitro*, non globulicide, comme nous venons de le dire, et *in vivo*, suivant l'opinion reçue, quand ce liquide, passant dans le sang et y trouvant un milieu alcalin, peut alors agir sur les globules. Encore est-il bon de rappeler que HAYEM(2) a parfaitement indiqué que le sérum des ictériques ne contient pas d'hémoglobine dissoute.

*Action de divers sérums.* — Quant aux divers sérums que nous avons étudiés à ce point de vue, ni celui du hérisson, ni celui du cobaye ou du

---

(1) Voyez les indications bibliographiques données p. 249.

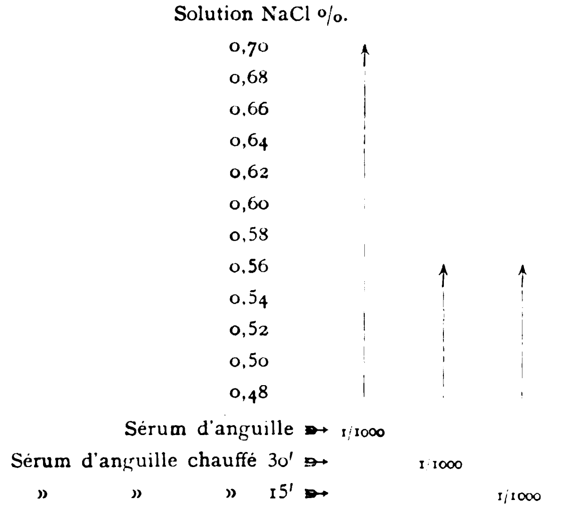
(2) G. HAYEM : *Du sang et de ses altérations anatomiques*, Paris, 1889, p. 516.

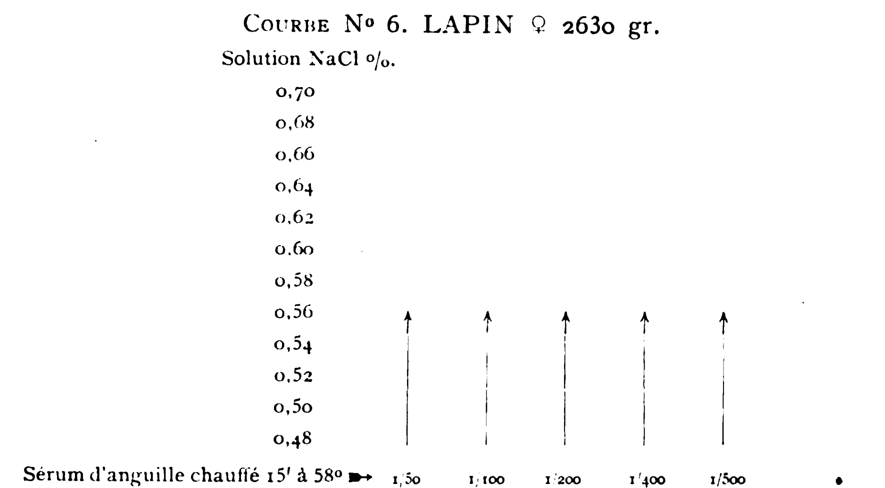
lapin, ni celui du chien, employés tels quels ou préalablement chauffés, n'empêchent l'action globulicide du sérum d'anguille. Il faut avoir soin dans ces expériences, bien entendu, de tenir compte de l'action globulicide propre du sérum employé, quand il sert pour éprouver celle du sérum d'une autre espèce animale.

Mais il est une condition dans laquelle un sérum, celui du lapin ou du cobaye, par exemple, acquiert à un haut degré la propriété de s'opposer à l'action globulicide de l'ichtyotoxique, c'est lorsque le sérum provient d'animaux immunisés contre ce poison. Nous étudions plus loin ce phénomène d'une manière détaillée (voyez 2e partie, p. 289).

D) *Influence de la chaleur.* — C'est sous l'influence d'une action physique, de la chaleur, que le sérum d'anguille perd aisément sa propriété globulicide. On sait d'ailleurs que le chauffage à 58—60°, pendant 30 ou même seulement 15 minutes, d'un sérum quelconque enlève à celui-ci son action dissolvante sur les globules rouges du sang d'une autre espèce; les expériences de G. DAREMBERG (voyez p. 261, note 1) sur ce point sont très nettes. Or, nous avons constaté par un grand nombre d'expériences que le sérum d'anguille chauffé à 58° durant 15 minutes perd tout pouvoir globulicide sur le sang du lapin ou du cobaye, même quand on l'emploie à des doses très fortes, $^1/_{50}$ par exemple, et même non dilué. Ce n'est pas d'une atténuation d'action qu'il s'agit, mais d'une suppression absolue. Les deux courbes ci-dessous suffiront à montrer le phénomène :

COURBE N° 5. LAPIN albinos ♀ 5 kgr.






Courbe N° 6. LAPIN ♀ 2630 gr.

Cette influence de la chaleur modérée ne conduit-elle pas à penser que la propriété globulicide est quelque chose d'analogue à une propriété de ferment ? Il est facile de montrer que le sérum d'anguille, au point de vue de l'action en général de la chaleur sur sa propriété globulicide, se comporte de façon différente suivant la température : la température de zéro ralentit le phénomène et les températures de 20° à 40° l'accélèrent; l'expérience suivante suffira à le montrer :

*Expérience VII.* — Lapin albinos ♂ de 1060 gr. Prise de sang dans la carotide droite ; à 10 h. 30 min. on en fait tomber une goutte dans chacun des tubes ci-dessous qui contiennent 5 c.c. NaCl à 0,66 °/o (solution légèrement hyperisotonique) et du sérum d'anguille à des titres divers ; on dispose trois séries de tubes que l'on place, les uns à la température de zéro, les autres à 23° et les derniers à 36° ; voici ce que l'on a observé :

| | | | |
|---|---|---|---|
| 0° | Tube n° 1 avec 1 goutte sérum d'anguille à | 1/1000 | Pas de diffusion à 12 heures ; diffusion à 1 h. 45. |
| | » n° 2 » » » » » | 1/4000 | Pas de diffusion à 12 heures ; pas de diffusion à 1 h. 45 ; légère diffusion à 3 h. |
| | » n° 3 » » » » » | 1/8000 | Pas de diffusion à 12 heures ; pas de diffusion à 1 h. 45 ; pas de diffusion à 3 h. |
| | » n° 4 » » » » » | 1/10000 | Pas de diffusion à 12 heures ; pas de diffusion à 1 h. 45 ; pas de diffusion à 3 h. |
| 23° | Tube n° 1 avec 1 goutte sérum d'anguille à | 1/1000 | Diffusion à 12 heures. |
| | » n° 2 » » » » » | 1/4000 | Pas de diffusion à 12 heures ; très légère diffusion à 1 h. 45. |
| | » n° 3 » » » » » | 1/8000 | Pas de diffusion à 12 heures ; pas de diffusion à 1 h. 45 ; pas de diffusion à 3 h. |
| | » n° 4 » » » » » | 1/10000 | Pas de diffusion à 12 heures ; pas de diffusion à 1 h. 45 ; pas de diffusion à 3 h. |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 36° | Tube n° 1 avec 1 goutte sérum d'anguille à | 1/1000 | Diffussion plus marquée à 12 heures. |
| | » n° 2 » » » » » | 1/4000 | Pas de diffusion à 12 heures; diffusion légère à 1 h. 45. |
| | » n° 3 » » » » » | 1/8000 | Pas de diffusion à 12 heures; pas de diffusion à 1 h. 45; pas de diffusion à 3 h. |
| | » n° 4 » » » » » | 1/10000 | Pas de diffusion à 12 heures; pas de diffusion à 1 h 45; pas de diffusion à 3 h. |

Le phénomène s'est donc passé, à très peu près, à 23° comme à 36°; mais entre les tubes maintenus à 0° et les deux autres séries il y a des différences très nettes (1).

Il nous semble encore intéressant de remarquer au sujet de ces expériences, que ce sérum, qui a perdu par le chauffage tout pouvoir globulicide, n'est pas pour cela devenu antiglobulicide. Au cours de leurs recherches sur le venin de la vipère, PHISALIX et BERTRAND ont trouvé que le sérum sanguin de cet animal, chauffé à 58°, perd ses propriétés toxiques et manifeste des propriétés antitoxiques et immunisantes; et leurs expériences les ont conduits à conclure que ces propriétés préexistent dans le sang (2). On voit que le sérum d'anguille, au moins en ce qui concerne sa propriété globulicide, se comporte autrement. Nous reviendrons d'ailleurs sur ce point dans la seconde partie de ce travail (3).

---

(1) A partir de 4 heures on a abandonné tous les tubes à la température du laboratoire et, comme d'habitude, après 24 heures, il y avait diffusion de l'hémoglobine dans tous.

(2) PHISALIX et BERTRAND : *Sur l'emploi du sang de vipère et de couleuvre comme substance antivenimeuse.* Soc. de Biol., 23 novembre 1895, p. 751. Ces auteurs ont d'ailleurs relaté d'autres expériences d'après lesquelles ils considèrent ce fait comme général (PHISALIX et BERTRAND : *Recherches sur l'immunité du hérisson contre le venin de vipère.* Soc. de Biol., 27 juillet 1895, p. 639; *Sur l'existence à l'état normal, de substances antivenimeuses dans le sang de quelques mammifères sensibles au venin de vipère.* Ibid., 18 avril 1896, p. 396).

(3) A côté de l'action du sérum d'anguille sur les globules, il y aurait eu lieu peut-être d'étudier son action sur la fibrine. On peut, en effet, constater aisément que le coagulum que donne le sang de l'anguille se redissout rapidement; la fibrinolyse est là très marquée. Mais, si l'on met directement en contact un flocon de fibrine, même très petit, avec du sérum d'anguille, ce flocon reste inattaqué, dans les conditions les plus favorables de digestion artificielle. Bien mieux, la présence de sérum d'anguille n'empêche pas la formation de la fibrine, quand à un plasma oxalaté très dilué on ajoute une petite quantité de chlorure de calcium. Nous nous sommes assurés d'ailleurs que ce dernier corps, à la même dose, n'est pas antiglobulicide.

2° ACTION SUR LE CŒUR ET SUR LA CIRCULATION.

Nous n'avons pas voulu entreprendre une étude analytique des troubles cardio-vasculaires provoqués par l'injection intra-veineuse de sérum d'anguille. A. Mosso a commencé cette étude. Nous avons signalé l'intérêt des modifications cardiaques que l'on peut observer chez le lapin à l'un des travailleurs du laboratoire, M. E. BARDIER, qui a publié sur cette question une note préliminaire(1). Dans cette note BARDIER décrit une phase de ralentissement du cœur, suivie d'une phase d'irrégularité dans les battements.

Il importe d'indiquer que, chez les lapins immunisés que nous avons mis aussi à sa disposition, ces troubles ne se produisent pas.

Signalons quelques autres faits. Avec les doses rapidement mortelles, toujours la respiration s'arrête avant le cœur; à l'ouverture du thorax, si elle est faite tout de suite après la cessation des mouvements respiratoires, on trouve le cœur battant encore.

La circulation périphérique n'est pas moins troublée. Il est facile de voir que les vaisseaux de l'oreille, chez le lapin, quand la mort n'est pas immédiate (c'est-à-dire ne survient pas en quelques minutes), se dilatent d'abord, puis se resserrent plus ou moins, quelquefois à un haut degré.

Si on enregistre les variations de la pression intra-carotidienne au moyen d'un manomètre à mercure, sur un lapin qui a reçu une dose moyenne (0,2 c.c. pour un animal de 17 à 1800 gr.), après une légère élévation, on remarque que la pression s'abaisse un peu; cette chute est interrompue par moments par des élévations soudaines correspondant aux accès de mouvements convulsifs que présente l'animal. Ce sont là des observations analogues à celles que A. Mosso avait déjà faites.

Il y a des cas dans lesquels la vaso-dilatation doit être considérable, puisque l'on peut observer des hyperémies intenses. Nous avons trouvé maintes fois à l'autopsie les viscères très congestionnés et des suffusions sanguines dans le péritoine. Il est vrai qu'il est permis de se demander si ce phénomène ne dépendrait pas plutôt d'une altération de l'endothélium vasculaire; ceci étant, le sang passe à travers les épithéliums et, comme il est incoagulable, il reste à l'état liquide dans les cavités séreuses. On peut penser que les substances dites hémorrhagipares agissent souvent de cette façon.

---

(1) E. BARDIER : *Action cardiaque du sérum d'anguille.* Soc. de Biol., 14 mai 1898, p. 548.

3° Action sur le système nerveux.

La description que nous avons donnée dans le chapitre I (p. 252 et suiv.) des accidents de nature convulsive ou d'ordre paralytique montre combien le système nerveux central est atteint par le sérum d'anguille. Quelques observations détaillées ne seront pas inutiles ici.

*Expérience VIII.* — Cobaye ♀ de 374 gr. On injecte dans la veine jugulaire droite, à 5 h. 26 min., 0,01 c.c. de sérum, dilué dans 0,25 c.c. d'eau salée à 8 °/₀₀. Pas d'accidents immédiats. Le lendemain, en le prenant, on voit éclater brusquement une attaque convulsive, consistant en contractions cloniques; puis le train postérieur se paralyse. De 4 h. 30 min. à 5 h. on note plus de dix attaques spontanées; les phénomènes relevés sont les suivants : efforts de vomissements, secousses des masséters et de tous les muscles, chute sur le flanc, sécrétions lacrymale et salivaire, miction (urines claires), paralysie des extenseurs; par moments l'animal se redresse et peut se tenir sur ses pattes, puis une nouvelle attaque survient. A 5 h. 12 min., température rectale = 39°,6. Mort de l'animal à ce moment. La rigidité cadavérique arrive presque immédiatement.

*Expérience IX.* — Cobaye ♀ de 432 gr. Injection dans la veine jugulaire droite, à 6 h. 18 min., de 0,02 c.c. de sérum d'anguille, dilué dans 0,5 d'eau salée. Quelques accidents immédiats : mâchonnements, abattement; plus tard, accélération respiratoire, tremblements généralisés (vers 6 h. 30 min). L'animal se remet. Le lendemain, vers 5 h., contracture très forte des membres, salivation; puis phase d'attitudes forcées, caractérisées par l'écartement et la raideur des pattes et par de l'opisthonos; en même temps secousses dissociées des muscles des cuisses (analogues à celles que l'on constate souvent chez les animaux thyroïdectomisés et que l'animal précédent a aussi présentées); à 5 h. 55 min. température rectale = 38°,6; de 6 h. à 6 h. 15 min. polypnée très intense. Le lendemain matin, on trouve l'animal mort.

On remarquera que, malgré les mouvements convulsifs, il n'y a pas eu chez ces animaux d'élévation thermique.

Il ne nous semble pas nécessaire de multiplier les observations analogues.

*Expérience X.* — Lapin albinos ♀ de 1450 gr. De 5 h. 23 min. à 5 h. 24 min. injection dans la veine marginale de l'oreille gauche de 0,4 c.c. de sérum dilué dans 4 c.c. d'eau salée. Dilatation immédiate des vaisseaux de cette oreille. A 5 h. 25 min. paralysie du train postérieur; puis l'animal se relève pour s'affaisser de nouveau; polypnée; vaso-constriction auriculaire des deux côtés à 5 h. 28 min. A 5 h. 29 min.

l'animal se met à marcher. A partir de 5 h. 35 on observe par moments des contractions fibrillaires des masséters; la salivation s'établit à ce moment. L'animal s'affaisse alors de nouveau, reste étendu sur le flanc et présente une violente dyspnée. A 6 h. 15 min. on constate que la sensibilité à la douleur est perdue; on peut marcher sur les pattes sans que l'animal réagisse; cependant le réflexe rotulien est conservé. A 6 h. 33 min. température rectale = 35°,9. A 6 h. 50 min. la pression d'une patte antérieure provoque un mouvement (sensibilité douloureuse reparue). A 6 h. 55 min. le réflexe rotulien est très affaibli et plus à droite qu'à gauche. Par la pression d'une patte antérieure très léger mouvement de défense : la patte se retire un peu. A 7 h. 10 min, même état; dyspnée encore plus forte. On trouve l'animal mort le lendemain matin.

D'autres observations à peu près semblables nous ont montré que la sensibilité à la douleur diminue chez le lapin. Le réflexe patellaire est conservé, mais s'affaiblit peu à peu jusqu'à la mort.

Tous ces troubles nerveux mériteraient sans doute une étude analytique. Les longues recherches dont on trouvera la relation dans la seconde partie de ce mémoire ne nous ont pas permis de l'entreprendre. Il est à supposer que le système nerveux, la moelle surtout, doit présenter des lésions graves, faciles à déceler grâce aux méthodes actuelles de fixation et de coloration des tissus. Nous avons déjà dit (voyez p. 257) que H. KOSSEL et A. WESTPHAL avaient en effet trouvé des altérations importantes des cellules de la moelle.

### 4° ACTION SUR L'ŒIL.

Nous avons observé, du côté de cet organe, quelques faits qui n'avaient pas été, croyons-nous, signalés jusqu'à présent : d'abord, dans quelques cas, à une phase avancée de l'intoxication, du ptosis(1); d'autres fois, quoique assez rarement, une exophtalmie très marquée; nous rapporterons à ce propos une expérience curieuse.

*Expérience XI.* — Lapin albinos ♀, de 4 kilogr. A 6 h. 39 min. injection dans la veine marginale de l'oreille droite de 0,3 c.c. de sérum dilué dans 3 c.c. d'eau salée à 8 °/₀₀. Myosis à droite; la pupille gauche ne subit aucune modification. De 6 h. 40 min. à 6 h. 42 min. 30 sec., on voit une exophtalmie considérable se produire; les globes oculaires, énormes, s'avancent littéralement hors des orbites, le phénomène est aussi étrange

(1) CALMETTE (*Le venin des serpents, Physiologie de l'envenimation*, Paris, 1896) a vu le venin de serpents donner lieu à du ptosis, surtout chez le singe.

que saisissant; puis ils reculent pour ainsi dire, rentrent dans les orbites. Vaso-dilatation auriculaire très marquée et myosis des deux côtés. A 6 h. 45 min. myosis à gauche, pupille plus dilatée à droite; dyspnée. A 6 h. 50 min. l'animal s'affaisse; salivation; paralysie du train postérieur, puis du train antérieur presque en même temps. A 6 h. 55 min. la vaso-constriction remplace la vaso-dilatation auriculaire; myosis de plus en plus marqué. Convulsions et mort à 7 h. Hémorrhagie nasale.

Il est rare toutefois que l'exophtalmie, quand elle se produit, soit aussi marquée qu'elle l'a été sur cet animal.

Quant au myosis, il est presque constant(1). A la suite de l'injection intra-veineuse de la dose habituelle de sérum, la pupille se rétrécit; ce resserrement est souvent égal des deux côtés, d'autres fois il est plus marqué d'un côté que de l'autre.

L'instillation ou l'injection intra-veineuse préalable de sulfate d'atropine n'empêche pas ce myosis. Quand celui-ci est réalisé, si on instille de l'atropine dans l'œil, le phénomène ne se modifie pas; au contraire, l'injection intra-veineuse de cette substance le diminue, sans cependant amener une dilatation pupillaire égale à celle qui surviendrait chez un animal normal. De même, l'excitation du segment céphalique du sympathique cervical fait dilater la pupille resserrée d'un lapin qui a reçu du sérum d'anguille. D'autre part, l'extirpation préalable du ganglion cervical supérieur d'un côté n'empêche pas la pupille de ce côté de se retrécir. — L'action myotique du sérum n'est donc pas due à une paralysie des fibres sympathiques irido-dilatatrices. Tient-elle à une excitation des filets irido-constricteurs? Nous avons essayé de trancher la question en pratiquant la section intra-crânienne du nerf moteur oculaire commun sur quelques lapins. On sait combien cette opération est difficile à réussir dans de bonnes conditions, c'est-à-dire de manière à ce que les animaux puissent être ensuite observés convenablement. Quelques-uns de ces lapins sont morts d'hémorrhagie et sur quelques autres la section du nerf avait été incomplète. Nous n'avons pas poursuivi ces essais. — Une autre observation nous a donné à penser que le sérum, quand même il exciterait les filets irido-constricteurs, pourrait bien agir aussi sur les éléments musculaires de l'iris, c'est qu'après la mort le myosis est persistant; ce phénomène est extrêmement net(2).

---

(1) Nous avons eu quelquefois, mais très rarement, des sérums qui ne le déterminaient pas. Voyez, par exemple, les expériences IV et V, p. 259.

(2) Cette observation suffit à combattre une hypothèse que l'on aurait pu faire encore pour expliquer le myosis, à savoir que celui-ci tiendrait à la congestion de l'iris. Cette congestion est d'ailleurs très réelle; nous avons déjà signalé l'injection si marquée

L'instillation directe du sérum (1 goutte dans l'œil) ne donne lieu qu'à un faible effet myotique, appréciable seulement par une comparaison attentive. Cette instillation irrite et congestionne fortement la cornée et la conjonctive.

Le sérum chauffé à 58° durant 15 minutes a perdu son action myotique.

Enfin, sur les animaux immunisés de la façon qui sera indiquée plus loin, l'injection intra-veineuse de sérum ne produit pas non plus le myosis. Par l'état d'immunité la manifestation de cette action physiologique est donc empêchée.

## III. — Conclusions.

Résumons maintenant, d'une façon brève, les faits essentiels et nouveaux que nous avons constatés au cours de ces recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille.

C'est d'abord l'action globulicide si intense de ce sérum que nous avons étudiée en détail, avec les conséquences toxiques qu'elle comporte (hémoglobinhémie, hémoglobinurie, phénomènes toxiques dépendant de cette destruction d'un grand nombre de globules). — L'analyse de ce fait nous a conduits à rechercher s'il n'y aurait pas moyen de l'empêcher. De là nos expériences d'immunisation et celles sur l'action antiglobulicide du sérum des animaux immunisés, dont l'exposé constitue la seconde partie de ce travail.

Parmi les phénomènes neuro-musculaires, outre la distinction que nous avons faite de deux formes de troubles nerveux, convulsifs et paralytiques, nous avons noté la production de secousses fibrillaires très caractéristiques dans différents groupes de muscles.

D'autre part, nous signalons une action excito-sécrétoire remarquable (larmoiement, salivation) qui mériterait d'être étudiée de près.

Nous avons aussi montré que le sérum d'anguille est un myotique puissant.

Enfin, rappelons l'interprétation que nous avons été amenés à donner des causes de la toxicité propre à ce sérum.

---

de cette membrane qui survient sous l'influence du sérum d'anguille et dont nous avons pu suivre aisément les progrès sur les nombreux lapins albinos sur lesquels nous avons expérimenté.

# SECONDE PARTIE.

## I. — Immunité naturelle du hérisson vis à vis du sérum d'anguille.

### 1° IMMUNITÉ DU HÉRISSON CONTRE L'ACTION TOXIQUE.

Les phénomènes que nous venons d'étudier ne sont pas présentés par tous les animaux auxquels on injecte du sérum d'anguille. C'est ainsi que le hérisson *(Erinaceus europæus)* est doué d'une remarquable immunité naturelle contre ce poison(1). Quelques expériences le montreront.

*Expérience XII.* — Hérisson ♀ de 540 gr. De 5 h. 32 min. à 5 h. 38 min. injection dans la veine jugulaire droite de 0,2 de sérum dilué dans 2 c.c. d'eau salée; rien de particulier à noter. De 5 h. 45 min. à 6 h. injection de 0,7 c.c.; pas de troubles apparents, sauf une défécation abondante vers 5 h. 50 min. L'animal est cependant malade, car, détaché, il reste étendu sur la table, sans se mettre en boule; vers 6 h. 30 min. la dyspnée s'établit; cet état d'abattement devient plus grave encore vers 7 h. Le lendemain matin on trouve l'animal mort. Il avait donc reçu en tout 0,9 c.c. de sérum d'anguille.

Par comparaison, un cobaye de 590 gr. est mort en 1 minute après l'injection intra-veineuse de 0,1 du même sérum, c'est-à-dire d'ailleurs, d'après tout ce que nous avons vu précédemment, d'une dose beaucoup trop forte encore (quatre ou cinq fois trop forte).

*Expérience XIII.* — Hérisson ♂ de 585 gr. De 11 h. 30 min. à 11 h. 47 min. injection dans la veine jugulaire droite de 1,1 c.c. de sérum d'anguille dilué dans 9 c.c. d'eau salée à 8 °/₀₀. La dyspnée avec râle trachéal a commencé à 11 h. 37; brusquement, à midi, l'animal se raidit et la respiration s'arrête. A l'ouverture du thorax, pratiquée immédiatement, le cœur bat.

Ainsi, ces animaux, sans mourir sur le coup et sans être frappés des accidents aigus auxquels succombent si rapidement les lapins et les cobayes, supportent des doses considérables d'ichtyotoxique; on peut admettre qu'ils ne meurent qu'avec une dose 40 ou 50 fois plus forte que celle qui est nécessaire pour tuer presque instantanément le cobaye(2).

---

(1) Nous avons signalé ce fait à la Société de Biologie (L. CAMUS et E. GLEY : *De la toxicité du sérum d'anguille pour des animaux d'espèce différente (lapin, cobaye, hérisson)*. Soc. de Biol., 29 janvier 1898, p. 129).

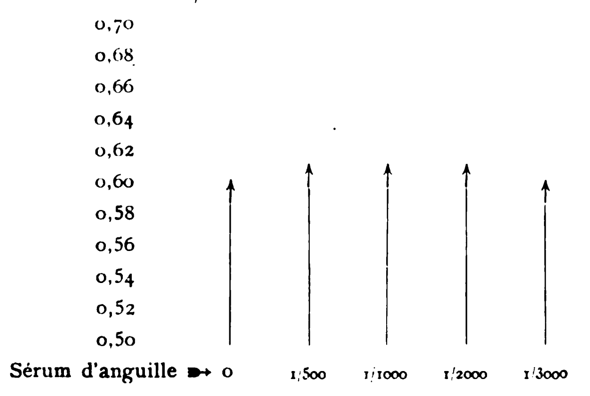
(2) PHISALIX et BERTRAND *(Recherches sur l'immunité du hérisson contre le venin de vipère.* Soc. de Biol., 27 juillet 1895, p. 639) ont montré que le hérisson offre au venin de vipère une résistance 35 à 40 fois plus grande que celle du cobaye; CALMETTE et DELÉARDE *(Sur les toxines non microbiennes et le mécanisme de l'immunité par les sérums antitoxiques*. Annales

Faute d'un nombre suffisant de hérissons, nous avons dû nous borner à ce type d'expériences dans lesquelles on recherche la dose mortelle d'emblée (1).

2° Immunité du hérisson contre l'action globulicide.

Il importe de remarquer tout de suite que les globules rouges du hérisson offrent une très grande résistance à l'action dissolvante du sérum d'anguille. On peut en juger par la seule inspection des courbes suivantes :

Courbe N° 7. HÉRISSON ♂ 685 gr.




Courbe N° 8. HÉRISSON ♂ 828 gr. T. rectale = 37°4.

Solution NaCl °/o.
0,70
0,68
0,66
0,64
0,62
0,60
0,58
0,56
0,54
0,52
0,50
Sérum d'anguille → 0 1/50 1/100 1/200 1/300

de l'Institut Pasteur, X, p. 675—707, 1896) ont de même établi qu'il faut pour tuer cet animal une dose d'abrine 10 fois plus forte que celle qui tue le lapin. — C'est donc un fait général que cette immunité du hérisson ; elle existe, en effet, vis à vis de toutes ces substances, toxines, venins, sérums toxiques, qui, par beaucoup de propriétés qu'elles ont en commun, forment un groupe naturel.

(1) Dans quelques autres expériences, mais en trop petit nombre pour que nous

On voit donc que, même à $^1/_{50}$, le sérum d'anguille n'exerce qu'une très faible action globulicide sur le sang de hérisson. Nous avons déjà indiqué la conséquence (voyez p. 259) qui sort de ce résultat au point de vue de la relation à établir entre la toxicité générale et l'action globulicide de l'ichtyotoxique(1).

## II. — Immunisation contre l'action toxique du sérum d'anguille et particulièrement contre son action globulicide.

Ces expériences sur des animaux pourvus de l'immunité naturelle vis à vis du sérum d'anguille nous ont fait entreprendre l'étude de l'immunisation d'animaux très sensibles à ce poison, comme le lapin et le cobaye. Ces essais ont porté sur l'action toxique et, d'autre part, et plus spécialement, sur l'action globulicide.

Cette division ne signifie pas que l'on puisse immuniser séparément contre l'une ou l'autre de ces actions (voyez d'ailleurs ce que nous avons dit p. 259 de leur étroite relation), mais simplement que dans beaucoup de cas nous avons jugé du degré d'immunité des animaux par la résistance acquise à l'action globulicide. L'intérêt fondamental et le principal avantage de l'étude que nous avons poursuivie nous paraît en effet consister en ce que, grâce au procédé facile non moins que rigoureux que nous connaissons d'évaluation *in vitro* du pouvoir globulicide et de ses variations, nous pouvons en quelque sorte avoir une mesure de l'immunité, une mesure suffisamment exacte. Les conditions du problème si complexe de l'immunité se trouvent en outre singulièrement simplifiées par ce fait que, dans cette dernière sorte d'expériences, est mis en jeu un seul élément anatomique, le globule rouge, séparé de l'organisme et ainsi soustrait à toutes les influences qui compliquent *in vivo* ses réactions, les influences nerveuses par exemple. Voilà pourquoi nous étudierons dans un chapitre spécial l'immunisation contre l'action globulicide.

---

puissions en tirer une conclusion ferme, nous avons vu que le hérisson résiste moins bien aux petites doses répétées, comme celles que l'on emploie pour immuniser le lapin ou le cobaye; il dépérit et meurt assez rapidement. Ainsi, un de ces animaux (♂ de 735 gr.), après avoir reçu à trois jours d'intervalle chaque fois 0,05 c.c. de sérum d'anguille, est mort au bout de 7 jours, ne pesant plus que 660 gr. On peut objecter, il est vrai, ou bien qu'il s'agissait d'un animal par hasard peu réfractaire ou bien que le sérum d'anguille employé était exceptionnellement toxique.

(1) Nous avons constaté que les globules du hérisson paraissent doués de la même résistance vis à vis de tout autre sérum globulicide ; c'est ainsi qu'ils résistent absolument à l'action du sérum de chien, à la dose de 1/100, dose qui fait nettement diffuser l'hémoglobine des globules du cobaye.

1° IMMUNISATION CONTRE L'ACTION TOXIQUE.

Cette partie de la question n'est pas neuve. Déjà plusieurs expérimentateurs avaient montré que l'on peut immuniser des animaux d'espèces diverses contre le sérum d'anguille.

Les recherches de J. HÉRICOURT et CH. RICHET(1) ont établi que l'injection sous-cutanée de sérum d'anguille chez le chien donne lieu à une réaction à la suite de laquelle le sérum sanguin de l'animal contient « une antitoxine immunisante »; en effet, le sérum d'un chien ainsi traité préserve le lapin contre l'action toxique du sérum d'anguille(2). D'autre part, le mélange *in vitro* de sérum d'anguille et de sérum antitoxique rend le premier de ces liquides inefficace; on peut injecter impunément ce mélange à des lapins. Les injections étaient faites dans les veines. Les auteurs admettent que l'antitoxine agit sur la toxine comme une substance chimique neutralisante, appliquant ainsi à ce cas particulier les idées de EHRLICH et de BEHRING. Nous verrons plus loin que l'action réciproque de la substance globulicide du sérum d'anguille et de la substance antiglobulicide du sérum d'animal immunisé paraît devoir s'expliquer de la même façon.

CARLO MAGLIERI(3) a fait sur des lapins des expériences analogues à celles de HÉRICOURT et RICHET, et réussi à immuniser ces animaux par des injections intra-veineuses de petites doses progressivement croissantes de sérum; il commençait par un dixième de la dose mortelle (qu'il avait préalablement déterminée), et augmentait cette quantité de 1/10e tous les jours; la dose mortelle étant atteinte, il injectait le lendemain 1 dose mortelle et demie, puis 2 et 3; il a constaté que les lapins ainsi traités arrivent à supporter 20 fois la dose toxique. Le sérum de ces animaux, injecté dans le péritoine, protège les cobayes contre les effets d'une injection intra-péritonéale de sérum d'anguille. Injecté dans les veines en

(1) J. HÉRICOURT et CH. RICHET : *Action locale du sérum d'anguille. Sérothérapie contre les effets toxiques du sérum d'anguille.* Soc. de Biol., 23 janvier 1897, p. 74; *Sérothérapie* in vitro *dans l'intoxication par le sang d'anguille.* Ibid., 10 avril 1897, p. 367.

Antérieurement, PHISALIX (*Propriétés immunisantes du sérum d'anguille contre le venin de vipère.* Acad. des Sc., 28 décembre 1896, p. 1305) avait montré que le sérum d'anguille chauffé (à 58° pendant 15 min.) immunise le cobaye contre le venin de vipère.

(2) HÉRICOURT et RICHET ont soin de rappeler que cette simple et démonstrative expérience est conçue et réalisée sur le type de celle que PHISALIX et BERTRAND (*Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère.* Soc. de Biol., 10 février 1894, p. 111; *Propriétés antitoxiques du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère.* Arch. de Physiol., 5e série, VI, p. 611—619, 1894) ont faite avec le venin de vipère.

(3) C. MAGLIERI : *Sull'azione tossica, immunizzante et battericida del siero di sangue di anguilla.* Annali d'Igiene sperimentale, N. S., VII, p. 191—214, 1897.

même temps que ce dernier, il ne manifesterait pas ses propriétés immunisantes. Ce résultat est en contradiction apparente avec les résultats des expériences de HÉRICOURT et RICHET, mais il faut remarquer que les auteurs français ont opéré dans des conditions différentes, se servant de sérum de chien qui pourrait être plus actif que le sérum de lapin immunisé et injectant ce sérum à des lapins.

WEHRMANN(1) a également immunisé des lapins contre le sérum d'anguille au moyen d'injections intra-veineuses de petites doses de ce poison.

Nous avons à notre tour employé, pour immuniser des lapins ou des cobayes, le même procédé des injections répétées à intervalles plus ou moins rapprochés, suivant l'état des animaux, de petites quantités de sérum normal d'anguille; et nous avons semblablement vu que les animaux ainsi traités peuvent, au bout de quelque temps, résister à des doses toxiques de sérum d'anguille. Mais le fait nouveau que nous avons trouvé, pour la recherche duquel d'ailleurs ces expériences avaient été instituées, c'est que le sérum sanguin de ces animaux a acquis des propriétés antiglobulicides, *in vitro* et *in vivo;* nous reviendrons plus loin sur ce fait.

Nous avons aussi cherché si par d'autres moyens on ne réussirait pas à conférer cette même immunité. Nous répartirons ces différents moyens en cinq classes :

1. Essais avec du sérum d'anguille ayant subi divers traitements, chauffage, neutralisation;

2. Essais avec du sérum d'animaux naturellement réfractaires; nous avons employé le sérum de hérisson, soit en nature, soit chauffé;

3. Essais avec des sérums antitoxiques, le sérum antivenimeux, par exemple;

4. Essais avec différents liquides organiques, comme la bile et le liquide hépatique provenant du passage à travers le foie d'une solution de propeptone;

5. Enfin, essais avec quelques substances chimiquement définies, produits de décomposition des matières albuminoïdes, la leucine et la tyrosine.

Quels résultats nous ont donné ces différentes séries d'expériences?

1. *Action du sérum d'anguille chauffé.* — L'action immunisante du sérum chauffé est très faible. Nous avons injecté des doses variant de 0,02 c.c. (dose évidemment trop faible) à 1 c.c. et le sérum normal a été injecté de

---

(1) Annales de l'Institut Pasteur, XI, p. 810—828, 1897.

1 à 72 heures après. Les deux tableaux suivants donnent le détail de ces expériences; les animaux témoins, auxquels est consacré le second tableau, ont reçu, bien entendu, le même sérum que les cobayes correspondants du premier tableau.

TABLEAU V. — *Immunisation par le sérum chauffé à 58° durant 15 minutes.*

| Numéros | Poids en gr. et sexe des cobayes | Dose de sérum chauffé en c.c. | Dose de sérum normal en c.c. | Intervalle séparant les deux injections | RÉSULTATS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 270 ♂ | 0,02 | 0,02 | 26 heures | Mort en 4 minutes. |
| 2 | 240 ♀ | 0,1 | 0,01 | 1 » | Mort en 3 jours et demi. |
| 3 | 225 ♀ | 0,1 | 0,01 | 1 » | Mort en 38 heures. |
| 4 | 226 ♀ | 0,1 | 0,02 | 5 » | Mort en 8 minutes. |
| 5 | 220 | 0,2 | 0,016 | 41 » | Mort en 12 minutes. |
| 6 | 256 | 0,2 | 0,016 | 42 » | Accidents convulsifs graves immédiatement après l'injection. Mort en 44 heures. |
| 7 | 234 ♂ | 0,5 | 0,015 | 3 jours | Mort en 23 heures. |
| 8 | 235 ♂ | 1 | 0,016 | 52 heures | Mort en 9 ou 10 minutes. |

TABLEAU V$^{bis}$. — *Animaux témoins des précédents.*

| Numéros | Poids en gr. et sexe des cobayes | Cobayes du tableau précédent auxquels correspondent ces témoins | Dose de sérum injecté en c.c. | RÉSULTATS |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 240 ♂ | 1 | 0,01 | Mort en 21 minutes. |
| 2 | 220 ♀ | 1 | 0,01 | Mort en 7 minutes. |
| 3 | 235 ♂ | 2 et 3 | 0,02 | Mort en 4 minutes, 30 secondes. |
| 4 | 257 ♀ | 4 | 0,01 | Mort en 12 ou 15 heures environ. |
| 5 | 240 ♂ | 5 et 6 | 0,016 | Mort en 6 minutes. |
| 6 | 254 ♂ | 7 et 8 | 0,016 | Mort en 3 minutes. |

L'expérience n° 1 (du tableau V) ne doit pas entrer en ligne de compte; il est clair que la dose de sérum chauffé était beaucoup trop faible. Les cas dans lesquels il paraît y avoir eu immunisation relative sont ceux inscrits sous les n$^{os}$ 2, 3, 6 et 7. On peut se demander, il est vrai, si le témoin des n$^{os}$ 2 et 3 (n° 3 du tableau V$^{bis}$) n'aurait pas survécu quelques heures s'il avait reçu seulement 0,01 c.c. de sérum normal au lieu de 0,02 c.c.; de plus, le n° 2 perd de sa signification, si on le rapproche des n$^{os}$ 3 et 4 du tableau IV (p. 255), pour autant toutefois qu'il est permis de comparer des expériences faites avec des sérums différents (il faut avoir soin, bien entendu, de ne faire porter cette comparaison que sur des sérums à pouvoir toxique analogue); sous cette réserve encore, les n$^{os}$ 6 et 7 sont des cas presque identiques au cas n° 2, d'une part, et, d'autre part, au n° 1 de ce même tableau IV.

Mais quand on augmente les doses, et surtout quand on répète à de

courts intervalles (1 jour ou deux) les injections de sérum chauffé, on obtient une immunisation plus franche. Dans ces cas alors, comme nous le verrons plus loin, le sérum de ces animaux a acquis la propriété antiglobulicide.

1[bis]. *Action du sérum neutralisé.* — Le sérum d'anguille est fortement alcalin. A l'idée des analogies qui existent entre ce liquide et les ferments, nous nous étions demandés si, en le neutralisant, on ne supprimerait pas ou tout au moins on ne diminuerait pas son activité, comme on diminue l'activité d'un ferment, quand celle-ci ne s'exerce qu'en un milieu déterminé, acide ou alcalin. Nous avons donc neutralisé aussi exactement que possible du sérum d'anguille au moyen d'acide chlorhydrique dilué. Voici l'un des résultats obtenus.

*Expérience XIV.* — Lapin gris de 1670 gr. Injection, le 16 mai 1897, à midi 1 minute, dans une veine de l'oreille, de 0,2 c.c. de sérum neutralisé, dilué dans 1,8 c.c. de chlorure de sodium, et porté à la température de 35° pendant 5 minutes; à partir de midi 8 min., accélération respiratoire. Resté en observation durant tout l'après-midi et jusqu'à minuit, il n'a pas présenté d'accidents (1); bien mieux, il a mangé. Très bien portant les jours suivants (2).

Le 20 mai, à 5 h. 59 min., on injecte à cet animal, dans une veine de l'oreille, 0,2 c.c. de sérum d'anguille normal, dilué dans 1,8 c.c. d'eau salée à 8 °/oo : immédiatement polypnée, mouvements impulsifs, course irrésistible, mort en 6 minutes.

Quelques autres essais ne nous ont pas donné de meilleurs résultats.

2. *Action immunisante du sérum de hérisson.* — Il était naturel de rechercher si le sérum du hérisson, animal réfractaire jusqu'à un certain point au sérum d'anguille, n'est pas susceptible d'immuniser contre ce sérum. Cette recherche devait être entreprise d'autant plus que PHISALIX et BERTRAND (voyez p. 275) ont vu que le sérum de hérisson immunise contre le venin de vipère; ces auteurs font remarquer qu'il importe de chauffer ce sérum à 58°—60°, chauffage qui enlève, en effet, les propriétés toxiques et conserve les propriétés immunisantes. En est-il de même avec

(1) *Expérience témoin* : Lapin ♀ de 1860 gr. Injection à midi 9 minutes de 0,2 c.c. du même sérum, normal, dilué dans 1,8 c.c. d'eau salée à 8 °/oo; mouvements impulsifs et mort en 4 minutes ou 4 minutes 30 secondes.

(2) On peut se demander si l'absence d'accidents chez cet animal n'a pas tenu à ce que le sérum a été légèrement chauffé, à une température, il est vrai, très peu élevée, mais suffisante peut-être pour diminuer son activité. N'en verrait-on pas une preuve dans ce fait que, dans d'autres expériences, le sérum neutralisé est resté toxique?

le sérum d'anguille? Les expériences suivantes donneront une réponse à cette question.

*Expérience XV.* — Cobaye ♂ de 590 gr. qui a reçu dans le péritoine 8 c.c. de sérum de hérisson préalablement chauffé pendant 15 minutes à 58°. Vingt-quatre heures après, injection dans la veine jugulaire droite de 0,05 c.c. de sérum d'anguille dilué dans 1 c.c. d'eau salée; mort en 2 minutes.

Cette dose de sérum d'anguille était trop forte de moitié.

*Expérience XVI.* — Cobaye de 430 gr. qui a reçu dans le péritoine 7 c.c. de sérum de hérisson chauffé 15 minutes à 58°. Vingt-quatre heures après, injection dans la veine jugulaire droite de 0,02 c.c. de sérum d'anguille, dilué dans 1 c.c. d'eau salée à 8 °/oo; agitation, quelques efforts de vomissement; 2 heures plus tard il paraît normal. Le lendemain, il pèse 335 gr. (n'a pas mangé); ce même jour, il se remet à manger. Le surlendemain matin, on le trouve mourant, paralysé, les pattes très froides.

Un cobaye témoin, du poids de 540 gr., n'a survécu que 24 heures à la même dose. Deux autres témoins, l'un de 440 et l'autre de 445 gr., sont morts, après la même injection, le premier en 40 minutes et le second en 20 minutes.

Malheureusement ce genre d'expériences exige de grandes quantités de sérum de hérisson. Or, cet animal ne fournit pas beaucoup de sang et, d'autre part, nous n'avions à notre disposition qu'un nombre restreint d'animaux. C'est pourquoi nous avons été amenés à essayer d'autres procédés d'immunisation. Nous avons d'abord employé le mélange des deux sérums.

*Expérience XVII.* — Hérisson ♀; le sang carotidien est reçu dans des tubes stérilisés; le lendemain, on recueille aseptiquement le sérum qui s'est formé. Ce sérum est chauffé 15 minutes à 57°—59°; on attend le refroidissement et on le mélange à du sérum d'anguille, dans la proportion de 1 c.c. de sérum de hérisson pour 0,1 du second sérum. Les deux liquides sont laissés en contact pendant 5 à 6 minutes, et le mélange est injecté à deux cobayes :

Cobaye n° 1, ♀ de 475 gr. Injection dans la veine jugulaire droite de 0,7 c.c. de ce mélange; l'injection dure 2 minutes; 1 minute et demie après l'animal meurt;

Cobaye n° 2, ♀ de 450 gr. Même injection, mais de 0,5 c.c. seulement de mélange, en 1 minute et demie; mort après 2 minutes. — Dans ce second cas le sérum d'anguille était resté en contact 4 heures 15 minutes avec le sérum de hérisson.

Ces expériences ne sont pas décisives, la quantité de sérum d'anguille contenue dans le mélange étant vraisemblablement trop forte. Il conviendrait de les répéter en employant de plus grandes quantités de sérum de hérisson pour de moindres doses du sérum toxique.

Nous avons eu recours encore à un autre procédé, l'injection dans le péritoine tous les jours ou tous les deux jours, durant 10 à 12 jours, de petites quantités (0,2 c.c. ou 0,3 c.c. au début jusqu'à 2 c.c. à la fin) de sérum de hérisson normal (non chauffé). Les injections étaient faites naturellement avec toutes les précautions habituelles d'asepsie. Dans ces essais, nous avons d'abord perdu deux cobayes qui peu à peu avaient dépéri ; leur température était tombée à 29° ou 30°. Mais d'autres ont mieux résisté aux injections préventives de sérum de hérisson, de telle sorte que nous avons pu réaliser l'expérience projetée.

*Expérience XVIII.* — Deux cobayes mâles, A de 480 gr. et B de 450 gr., reçoivent dans le péritoine 0,7 c.c. de sérum de hérisson, dilué dans 1 c.c. d'eau salée, le 13 décembre 1897 ;

Le 15, injection de 1,2 c.c. ;

Le 17, » » » » ;

Le 18, » » 2 c.c. dilués dans 1 c.c. d'eau salée ;

Le 22, A pèse 510 gr. et B 432 gr. ;

Le 23, A reçoit dans la veine jugulaire droite 0,04 c.c. de sérum d'anguille, dilués dans 1 c.c. d'eau salée ; il meurt en 3 minutes.

La dose d'ichtyotoxique paraît avoir été trop forte (d'après tout ce que nous ont appris nos expériences, une fois trop forte). Il se peut, en effet, que l'animal soit immunisé pour la dose simplement mortelle, et non pour une dose double de celle-ci.

Le 24 décembre, B reçoit encore dans le péritoine 3 c.c. de sang de hérisson ;

Le 29, injection de 4 c.c. de sérum de hérisson ;

Le 30, à 9 h. du matin, on le trouve mort, encore un peu chaud.

Faute d'animaux, nous avons dû abandonner ces essais.

On voit que le procédé d'immunisation qui nous a donné le meilleur résultat (voyez expérience XVI) est celui qui a été préconisé par Phisalix et Bertrand, injection intra-péritonéale d'une assez grande quantité de sérum chauffé. Mais rien ne prouve que les deux autres, injection d'un mélange des deux sérums et injection de petites quantités croissantes de sérum normal de hérisson, ne fourniraient pas aussi des résultats positifs ; car, dans les quelques expériences que nous avons faites suivant ces deux procédés, nous avons employé des doses trop fortes de sérum toxique.

Or, l'immunisation, on le sait, n'est pas quelque chose d'absolu; tel animal, immunisé pour une dose donnée de toxine, ne résistera pas à une dose plus élevée. D'ailleurs, d'une façon générale, l'action immunisante du sérum de hérisson n'est pas très intense, d'après les expériences de PHISALIX et BERTRAND sur le venin de vipère (loc. cit.) et d'après celles de CALMETTE (loc. cit.) sur le venin de serpents (mélange de venin de *Naja tripudians,* de *Bothrops lanceolatus* et de *Crotales* d'origines diverses) et sur l'abrine (1). S'il est permis de conclure de ces faits à l'action du même sérum sur l'ichtyotoxique, on admettra que cette action peut ne pas être très énergique non plus, et par suite, que, pour éprouver les animaux supposés immunisés, il convient de ne pas leur injecter de trop fortes doses d'ichtyotoxique.

3. *Action immunisante du sérum antivenimeux.* — Les sérums ayant acquis des propriétés antitoxiques ne seraient-ils pas doués du pouvoir d'immuniser contre le sérum d'anguille? C'est assurément le sérum antivenimeux qui paraissait *a priori* devoir être employé avec le plus de succès dans ce but, et c'est d'ailleurs le seul que nous ayons utilisé. Nous devons à l'obligeance de M. CALMETTE, directeur de l'Institut Pasteur de Lille, le sérum antivenimeux qui nous a servi; c'est du sérum de cheval immunisé contre un mélange de trois venins, de *Cobra capel,* de *Bothrops lanceolatus* et d'*Echis carinata.* Nous n'avons d'ailleurs fait avec ce sérum qu'un petit nombre d'expériences.

*Expérience XIX.* — Lapin ♀ de 4110 gr., ayant reçu en injection intra-veineuse 6 c.c. de sérum antivenimeux en 6 jours, soit 2 c.c. tous les deux jours; 6 jours après reçoit encore 5 c.c. du même sérum (il pèse alors 4000 gr.). Une demie heure après, injection intraveineuse de 0,3 c.c. de sérum d'anguille dilué dans 3 c.c. d'eau salée : myosis, exophtalmie, dyspnée, salivation, paralysie, vaso-constriction auriculaire, convulsions et mort au bout de 21 minutes.

*Expérience XX.* — Cobaye ♂ de 280 gr. qui reçoit 2 c.c. de sérum antivenimeux dans la veine jugulaire droite, et, 1 h. 50 min. après, 0,013 c c. de sérum d'anguille. Survie.

*Expérience XXI.* — Cobaye ♀ de 255 gr. qui reçoit dans la veine

(1) CALMETTE (*Contribution à l'étude des venins, des toxines et des sérums antitoxiques.* Annales de l'Institut PASTEUR, IX, p. 225—251, 1895) et CALMETTE et DELÉARDE (*Sur les toxines non microbiennes et le mécanisme de l'immunité par les sérums antitoxiques.* Ibidem. X. p. 675—707, 1896) ont constaté également que le sérum du Mangouste, animal naturellement réfractaire aux venins de Serpents, ne possède que de faibles propriétés antitoxiques et préventives vis à vis de ces venins.

jugulaire droite 3 c.c. de sérum antivenimeux. 3 heures après, injection dans la même veine de 0,01 c.c. de sérum d'anguille. Mort après 3 jours.

Ces expériences doivent être considérées comme insuffisantes pour juger la question de savoir si le sérum antivenimeux peut immuniser contre l'ichtyotoxique. Elles montrent en tout cas qu'il peut y avoir quelquefois immunisation. WEHRMANN d'ailleurs, dans le laboratoire de CALMETTE, a prouvé la réalité de ce pouvoir préventif(1).

On trouvera plus loin les résultats de nos recherches concernant l'influence du sérum antivenimeux sur l'action globulicide du sérum d'anguille.

4. *Action du plasma hépatique de propeptone (antiplasmasme).* — Au cours des recherches que nous avons faites dans ces dernières années sur l'action de la propeptone sur la coagulabilité du sang(2), nous avons eu maintes fois l'occasion de remarquer que les plasmas obtenus à la suite d'une injection de cette substance ne sont jamais colorés par de l'hémoglobine dissoute. De là, après que nous eûmes étudié l'action globulicide du sérum d'anguille, l'idée de rechercher si cette action ne serait pas empêchée par le liquide qui s'écoule des veines sus-hépatiques après passage dans le foie d'une solution de propeptone(3). En raison de son action supposée sur le ferment coagulateur du sang, la plasmase, et pour simplifier, nous appelons ce liquide *antiplasmase*. Nous dirons plus loin (voyez p. 296) un mot de ces essais.

Nous avons aussi cherché si l'action toxique générale du sérum

---

(1) L'étude des effets d'un autre liquide organique, la bile, s'offrait aussi. C'est FRASER (Brit. med. Journ., 17 juillet 1897) qui a constaté le premier que la bile possède des propriétés antitoxiques vis à vis du venin des serpents. Un peu plus tard, WEHRMANN (*Recherches sur les propriétés toxiques et antitoxiques du sang et de la bile des anguilles et des vipères* Annales de l'institut PASTEUR, XI, p. 810—828, 1897), dans le laboratoire de CALMETTE, constata que la bile de bœuf neutralise *in vitro* non seulement le venin de vipère, mais aussi le sérum d'anguille; elle ne possèderait ni pouvoir préventif ni pouvoir curatif. PHISALIX, à son tour (*La cholestérine et les sels biliaires vaccins chimiques du venin de vipère.* Soc. de Biol., 11 décembre 1897, p. 1057), a reconnu qu'un mélange de bile de vipère et de venin est inoffensif et, d'autre part, que cette même bile a des propriétés vaccinantes vis à vis du venin, puis, comme suffit à l'indiquer le titre de sa note, il s'est attaché à déterminer quelles sont dans la bile les substances douées de ces propriétés.

Pour nous, nous n'avons étudié que l'influence de la bile sur l'action globulicide du sérum d'anguille (voyez p. 266).

(2) Voyez p. 248 l'indication de quelques travaux de GLEY et PACHON et de GLEY sur cette question; voyez aussi L. CAMUS et E. GLEY, Soc. de Biol., 1896 et 1898.

(3) C. DELEZENNE : *Formation d'une substance anticoagulante par circulation artificielle de peptone à travers le foie.* Arch. de Physiol., 5e série, VIII, p. 655—668, 1896.

d'anguille ne serait pas supprimée ou diminuée par l'antiplasmase. Le résultat de nos expériences peut être résumé dans le tableau suivant :

TABLEAU VI.

| Numéros | Animaux Poids en grammes et sexe | Dose d'antiplasmase en c.c. | Dose de sérum d'anguille en c.c. | Intervalle séparant les 2 injections | RÉSULTATS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lapin 1500 ♀ | 3 | 0,4 | 1 heure | Survie. |
| 2 | » 1330 ♂ | 3 | 0,3 | 1 minute | Mort en 4 minutes. |
| 3 | Cobaye 590 ♂ | 3 | 0,07 | 2 h. 15′ | Mort en 2 heures environ. |
| 4 | » 670 ♂ | 6 dans le péritoine | 0,18 | 30 minutes | Mort en quelques heures. |
| 5 | » 515 ♂ | 6 » » » | 0,03 | 22 heures | Mort en 2 minutes. |
| 6 | » 500 ♂ | 2 | 0,04 | 6 minutes | » » » » |
| 7 | » 520 ♂ | 2 | 0,1 | 30 minutes | Mort en 4 minutes. |
| 8 | » 580 ♀ | 2 | 0,05 | 30 minutes | » » » » |
| 9 | » 415 ♂ | 1,8 | 0,03 | 3 heures | Mort en 3 minutes. |
| 10 | » 480 ♂ | 2 | 0,07 | 19 heures | Mort en 1 minute. |

Quelques-uns de ces résultats (voyez n^os 1, 3 et 4) montrent, ce semble, que l'antiplasmase, injectée dans le sang 1 ou 2 heures environ avant le sérum d'anguille, protège les lapins ou les cobayes contre une dose mortelle de ce liquide. Si ce dernier est injecté quelques minutes ou plusieurs heures (10 à 20) après l'antiplasmase, l'action préventive de cette substance ne paraît pas pouvoir se produire. Il convient de remarquer, il est vrai, que très souvent, dans nos expériences, les doses de sérum ont été trop élevées; c'est ce qui est certainement arrivé pour les n^os 7, 8, 10 et même 9; la dose injectée au n° 3 était également beaucoup trop forte et il est très vraisemblable que cet animal eût survécu, s'il avait reçu simplement la dose mortelle ou une dose seulement un peu supérieure.

Si on mélange le sérum et l'antiplasmase et qu'on injecte une quantité déterminée de ce mélange, on n'obtient aucune atténuation des effets toxiques du sérum; l'antiplasmase n'exerce donc aucune action neutralisante *in vitro*.

Il nous semble que ces essais mériteraient d'être repris. Leur intérêt d'ailleurs n'augmente-t-il pas si on les rapproche des expériences de E. FREUND et S. GROSZ sur l'action neutralisante et préventive des albumoses ou de l'histone sur les toxines diphtérique et tétanique et de celles de Bosc et DELEZENNE sur l'action immunisante d'une injection intra-veineuse de propeptone ou d'extrait de sangsue contre les effets des cultures virulentes de streptocoques ou de coli-bacilles(1)?

(1) E. FREUND et S. GROSZ : *Ueber die Beziehungen von Albumosen zur passiven Immunisirung*. Centralbl. f. inn. Med., XVII, S. 497, 9 mai 1896, Communication à la

5. *Action de la leucine et de la tyrosine.* — Nous avons déjà indiqué (voyez p. 265) pour quelles raisons nous avions recherché si la leucine et la tyrosine n'empêchent pas l'action globulicide du sérum d'anguille. De même, nous avons voulu voir si au moyen de ces substances on ne réussirait pas à immuniser contre l'action toxique du sérum. Les résultats que nous avons obtenus sont ou bien négatifs ou bien trop peu précis pour

TABLEAU VII.

| Numéros | Animaux Poids en gr. et sexe | Dose de leucine, L ou de tyrosine, T en gr. | Dose de sérum d'anguille en c.c. | Intervalle séparant les 2 injections | RÉSULTATS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Lapin 2195 | 0,001 T | 0,2 | o [1] | Mort en 5 minutes. |
| 2 | » 2300 | 0,0005 T [2] | 0,3 | 10 minutes | Mort en 18 heures environ. |
| 3 | » 1500 | 0,0005 T [2] | 0,2 | 24 » | Mort en 4 minutes. |
| 4 | » 1765 ♀ | 0,001 T | 0,2 | 16 » | Mort en 2 min. 30 sec. |
| 5 | » 1720 ♀ | 0,001 T | 0,2 | o [3] | Mort en quelques heures. |
| 6 | » 2170 | 5 c.c. d'une solution saturée à chaud d'un mélange L et T. | 0,3 | o | Mort en 16 minutes. |
| 7 | Cobaye 410 ♂ | 0,01 T | 0,04 | 50 minutes | Mort en 5 minutes. |
| 8 | » 408 ♂ | 0,01 T | 0,02 | 1 heure | Mort en 13 h. 10 min. |
| 9 | » 410 ♀ | 0,01 T | 0,03 | 23 heures | Mort en 30 minutes. |
| 10 | » 280 ♂ | 0,01 } dans le péritoine | 0,2 } dans le péritoine | 2 jours | Mort en 5 h. 30 min. |
| 11 | » 270 ♀ | » | » | » | Survie [4]. |
| 12 | » 262 ♂ | » | » | » | Survie [4]. |

Soc. des médecins de Vienne, mars 1896; voir aussi un travail antérieur des mêmes auteurs (Centralbl. f. inn. Med., XVI, S. 913, 1895, nº 38) concernant l'action *in vitro* de la nucléo-histone et de l'acide nucléinique sur la toxine et l'antitoxine diphtériques. Bosc et Delezenne : *De l'imputrescibilité du sang rendu incoagulable par l'extrait de sangsue et de l'immunité conférée par quelques substances anticoagulantes.* Comptes rendus de l'Acad. des Sc., 14 septembre 1896. — La question d'ailleurs peut être considérée comme ayant été déjà posée par les recherches de Wooldridge (Proc. of the Royal Soc., 1887, p. 312; Archiv f. Anat. und Physiol., physiol. Abth., 1888, S. 174, 527) et de Wright (Brit. med. Journ., 1891, II, p. 641) sur l'action du *fibrinogène des tissus* (on sait que ce que Wooldridge a appelé ainsi peut être identifié à la nucléo-histone) sur le charbon. — A la vérité, F. G. Novy (*The immunizing power of nucleohiston and histon.* The journ. of exper. Med., I, p. 693—716, 1896) a fait une critique expérimentale très soignée des expériences de Freund et Grosz, aussi bien que des recherches plus anciennes de Wooldridge et de Wright.

(1) Dans ce cas la tyrosine avait été triturée avec le sérum d'anguille et c'est ce mélange qui fut injecté.

(2) La substance avait été triturée dans 5 c.c. de sérum de chien.

(3) Dans ce cas on injecte le mélange de tyrosine et de sérum d'anguille, les deux substances étant restées en contact pendant 15 min. à la température du laboratoire (15º).

(4) Deux témoins de même poids, ayant semblablement reçu dans le péritoine la même dose du même sérum, ont également survécu.

qu'il soit possible d'en tirer une conclusion sûre ; tels qu'ils sont cependant, nous les présentons dans le tableau VII.

On sait que la leucine et la tyrosine sont très peu solubles dans l'eau, mais plus solubles dans l'eau bouillante (1 pour 150). Or, l'injection de quelques centimètres cubes d'eau à 95° dans une veine paraît être sans danger (1). Beaucoup de nos injections ont été faites de cette manière; nous aurons soin de mentionner les cas où il aura été procédé autrement.

Il est apparemment difficile de rien conclure de ces expériences. Passons en effet rapidement en revue leurs résultats. Le lapin n° 2 n'a certainement pas été préservé parce que la dose de 0,3 c.c., pour cet animal qui pesait 2300 gr. est une dose rarement mortelle d'emblée, en quelques minutes. Les deux autres animaux, que l'on pourrait considérer comme ayant été quelque peu immunisés, sont les nos 5 (lapin) et 8 (cobaye), mais il faut compter, dans ce genre d'expériences, avec les résistances individuelles, cause d'erreur qu'il n'est permis d'éliminer que par un grand nombre d'observations; de plus, nous devons remarquer que le cobaye (n° 8), immédiatement après l'injection, a présenté de graves accidents (convulsions, dyspnée, polypnée, puis ralentissement progressif de la respiration) et que ces accidents n'ont pas cessé jusqu'à la mort.

De ce que les injections de tyrosine nous ont paru n'exercer aucune action préventive contre le sérum d'anguille, il ne s'ensuit pas qu'elles ne puissent immuniser contre les effets d'autres toxines. C'est ainsi que PHISALIX (2) a vu qu'une injection sous-cutanée de tyrosine, à la dose de 5 à 20 milligrammes, en suspension dans l'eau (l'auteur faisait un mélange à 1 pour 100), préserve le cobaye contre une dose de venin de vipère mortelle en 5 à 6 heures pour les témoins (3).

---

(1) ATHANASIU et CARVALLO : *La résistance des animaux homéothermes aux injections très chaudes intra-veineuses*, Soc. de Biol., 17 juin 1897, p. 590; *L'action des hautes températures sur le cœur* in vivo, Arch. de Physiol., 5e série, IX, p. 788—801, 1897.

(2) C. PHISALIX : *La tyrosine, vaccin chimique du venin de vipère*. Soc. de Biol., 5 février 1898, p. 153.

(3) Nous avons cependant, de notre côté, éprouvé sans succès le pouvoir immunisant de la tyrosine contre un venin de serpent qui nous a été très obligeamment envoyé par M. CALMETTE (voyez plus haut, p. 284). Dans la séance de la Société de Biologie où PHISALIX a présenté les résultats de ses expériences sur les effets vaccinants de la tyrosine, nous avons été amenés à dire quelques mots de nos propres et infructueux essais dans la même voie. Notre collègue a remarqué, avec raison certainement, que tous les venins ne sont pas identiques, que toutes ses expériences avaient été faites avec le venin de vipère exclusivement, tandis que les nôtres l'avaient été avec un mélange de trois venins. Nous ne prétendons donc pas infirmer, à l'aide des quelques expériences que nous avons faites, les observations de PHISALIX.

2° IMMUNISATION CONTRE L'ACTION GLOBULICIDE.

Quand on injecte à un lapin immunisé contre le sérum d'anguille une dose mortelle de ce sérum, non seulement l'animal survit, mais on s'aperçoit que ses globules rouges ne sont plus détruits.

La découverte de ce dernier fait(1) nous a conduits à entreprendre l'étude du problème de l'immunité par ce côté très particulier, la résistance d'un élément anatomique à une action toxique bien déterminée. Nous avons pensé qu'il y avait là un moyen sûr et précis, en même temps certes que très simple et commode à mettre en œuvre, de saisir quelques-unes au moins des conditions et peut-être même des causes de l'immunité. Le phénomène dont il s'agit de déterminer la nature et, si possible, les causes, est en effet d'une constatation des plus faciles; observé à volonté sur l'animal vivant, il peut être reproduit de la façon la plus aisée *in vitro* et ainsi étudié avec une grande précision; l'action toxique en jeu, l'action globulicide, ne porte que sur un seul élément anatomique, le globule rouge; il en va conséquemment de même pour l'action antitoxique. Par là le problème de l'immunité se trouve soumis à l'analyse dans des conditions de simplicité rarement réalisées.

Il est juste de rappeler ici que déjà la pathologie générale a été engagée dans cette voie par les belles expériences de P. EHRLICH relatives à l'action *in vitro* d'une toxine végétale, la ricine, sur la coagulabilité du sang (2), et

---

Nous n'avons pas poursuivi nos essais, la question dont il s'agit s'écartant de notre étude spéciale. Récemment CALMETTE (*Sur le mécanisme de l'immunisation contre les venins*, Annales de l'Institut Pasteur, XII, p. 343—348, 1898) a fait observer que, dans les expériences sur les propriétés vaccinantes de la bile, de la cholestérine, etc., il importe d'éprouver les animaux « avec des doses de venin sûrement mortelles en 2—3 heures, car si on n'injecte que des doses mortelles en 5—6 heures, comme le fait M. PHISALIX, on trouve environ quatre cobayes, sur dix de même poids, qui survivent après avoir été plus ou moins malades, et sans injection préventive de bile ». Ajoutons pourtant que CALMETTE reconnaît lui-même quelque propriété préventive à la bile, à la cholestérine, etc. vis à vis du venin; mais il ne s'agirait point là, d'après lui, d'une action spécifique; d'autres corps, le bouillon normal frais, par exemple, divers sérums, se comportent de même. « On a tout simplement affaire ici à des effets de stimulation cellulaire, mais ces effets sont très passagers et peuvent être produits par des substances très différentes. » (CALMETTE, loc. cit., p. 347.)

(1) L. CAMUS et E. GLEY : *De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale. Immunisation contre cette action.* Comptes rendus de l'Acad. des Sc., CXXVI, p. 428, 31 janvier 1898.

(2) C'est KOBERT qui a montré que la ricine produit dans le sang *in vitro*, même dans le sang circulant, une coagulation spéciale (voyez H. STILLMARK : *Ueber Ricin.* Arbeiten des pharmak. Instituts zu Dorpat, III, S. 59—151, 1889).

à l'action contraire du sérum des animaux immunisés contre la ricine (1). EHRLICH a montré qu'une quantité donnée d'une solution de ricine qui amène la coagulation rapide de quelques centimètres cubes de sang citraté, ne produit plus son effet quand on l'a mélangée avec une quantité proportionnelle de sérum de chien immunisé contre la ricine *(Antiricinserum)*. Il était ainsi établi pour la première fois qu'une toxine et une antitoxine peuvent agir directement l'une sur l'autre. De ces expériences l'auteur conclut que ces deux substances se neutralisent chimiquement.

Les recherches que nous avons à exposer maintenant sont tout à fait de même genre; elles fournissent, comme celles d'EHRLICH, la preuve directe, au moyen d'une expérience facile *in vitro,* de la présence d'une antitoxine dans le sang d'animaux immunisés, et, d'autre part, comme on le verra plus loin, elles permettent de déterminer le mécanisme de l'immunisation. Très peu de temps après notre première publication sur cette question, parut un intéressant travail de H. KOSSEL, qui avait de son côté conçu et réalisé d'une manière indépendante la même expérience (2); comme nous, il a vu que le sérum d'anguille ne détruit plus les hématies du sang de lapin quand il a été additionné *in vitro* d'une quantité suffisante de sérum d'un animal immunisé contre l'ichtyotoxique; dans ses expériences il fait varier les quantités de sérum antitoxique, la dose de sérum d'anguille restant la même; nous avons fait, au contraire, varier les doses de ce dernier, en employant toujours la même quantité de sérum immunisant; dans les deux cas, la constatation a éte la même, à savoir qu'il y a proportion simple entre les doses de toxine et d'antitoxine nécessaires pour que la neutralisation de l'une par l'autre ait lieu. « Es ist mir also gelungen, dit H. KOSSEL, in ähnlicher Weise wie EHRLICH, für ein zweites Gift zu zeigen, dass Antitoxin und Toxin sich im Reagensglase binden können. » C'est la même démonstration que nous avons donnée.

D'autre part, à peu près en même temps encore, J. W. W. STEPHENS et W. MYERS (3) ont montré que le venin de cobra exerce une action

---

(1) P. EHRLICH : *Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung.* Fortschritte der Medicin, 15 janvier 1897. Les travaux de EHRLICH sur l'immunisation contre la ricine et contre l'abrine sont plus anciens *(Exper. Unters. über Immunität. I. Ueber Ricin ; II. Ueber Abrin.* Deutsche med. Wochenschr., 1891, S. 976—1218).

(2) H. KOSSEL : *Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung.* Berl. klin. Wochenschr., 14 fév. 1898.

(3) J. W. W. STEPHENS and W. MYERS : *Test- tube reactions between Cobra poison and its antitoxin.* Brit. med. Journ., 5 mars 1898. — CALMETTE *(Le venin des serpents. Physiol. de l'envenimation.* Paris, 1896) dit très brièvement que pendant l'envenimation, sur beaucoup

dissolvante sur les hématies et que cette action est empêchée par des quantités fixes de sérum antivenimeux; ainsi, l'effet de 0,1 milligr. de venin est supprimé par 0,1 c.c. de sérum; et ces auteurs, à leur tour, concluent de leurs expériences que la mesure de la neutralisation du venin *in vitro* par le sérum antivenimeux est, d'une façon générale, la mesure de la neutralisation *in vivo* (chez le cobaye) et que cette neutralisation est un phénomène d'ordre chimique et non cellulaire (1).

Voilà donc en un court laps de temps une série d'observations concordantes, réalisées indépendamment les unes des autres, dont la signification paraît bien être la même.

1. *Étude du phénomène et de ses conditions.* — Voyons maintenant dans ses détails le phénomène que nous voulons étudier.

*Expérience XXII.* — Deux lapins albinos de la même portée, âgés de 2 à 3 mois, et pesant, l'un (A ♀) 1430 gr., l'autre (B ♂) 1360 gr., reçoivent dans une veine de l'oreille 0,05 c.c. de sérum d'anguille, dilué dans 0,5 c.c. d'eau salée à 8 ‰. On remarque après l'injection du myosis et un peu d'abattement.

Trois jours après, même injection. Pas de myosis.

Six jours après, même injection.

Huit jours après, injection de 0,075 c.c.

A pèse à ce moment 1550 gr. et B 1519 gr. Ils ne paraissent donc pas avoir souffert.

On continue les injections :

Dix jours après, injection de 0,1 c.c.

Treize jours après, » » » »

Le quatorzième jour, A pèse 1450 gr. et B 1270 gr. Ce dernier a, depuis vingt-quatre heures, un peu de diarrhée, ce qui peut expliquer en partie sa perte de poids. On pratique sur ces deux animaux une saignée carotidienne; B est sacrifié par hémorrhagie.

Pour éprouver la résistance de A, on lui fait une injection intraveineuse de 0,4 c.c. de sérum d'anguille, c'est-à-dire d'une dose mortelle à coup sûr (dose double de la dose mortelle). On ne constate aucun symptôme d'empoisonnement. Le lendemain, un peu d'abattement peut-être; sauf cela, apparence normale. Il est donc bien immunisé.

---

d'animaux, il a remarqué que « les hématies se gonflaient un peu et que l'hémoglobine se dissolvait rapidement » (p. 23).

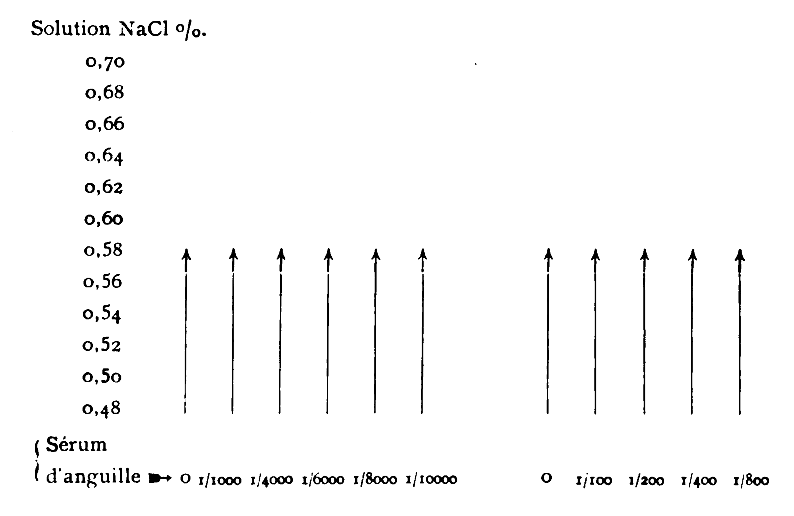
(1) Dans notre note à l'Acad. des Sc. du 31 janvier 1898 nous avions annoncé que nous avions en voie d'exécution des expériences sur l'action hémolytique des venins de Serpents. Après la publication de l'intéressant travail de STEPHENS et MYERS nous n'avons pas continué ces recherches.

Or, du sang artériel de ces deux animaux, mis à centrifuger, a fourni un sérum clair, non coloré en rouge, contrairement à ce qui se passe chez les animaux qui reçoivent pour la première fois du sérum d'anguille. De plus, *in vitro,* on peut aisément constater, à l'aide de la méthode de Hamburger, que les globules de ces animaux immunisés résistent à l'action destructive du sérum d'anguille. Enfin, leur sérum sanguin ou leur plasma protège les globules du sang d'un autre animal, non immunisé, contre l'action globulicide du sérum d'anguille. Ces faits constituent trois preuves concordantes de l'état réfractaire acquis par les animaux dont il s'agit.

Il nous paraît inutile de rapporter ici toutes les expériences, semblables à celle-ci, que nous avons faites. Il sera préférable sans doute de représenter quelques-unes de ces expériences par des courbes analogues à celles que l'on a déjà vues dans ce travail.

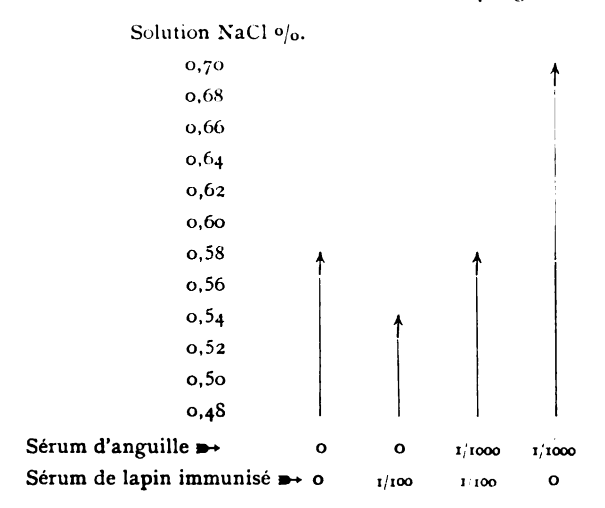
Voici d'abord deux graphiques qui montrent que les globules rouges du lapin immunisé ne laissent plus diffuser leur hémoglobine sous l'influence du sérum d'anguille, mais ont acquis une résistance spécifique, identique à celle des globules du hérisson, c'est-à-dire d'un animal pourvu de l'immunité naturelle.

Courbe No 9. LAPIN de 1510 gr. immunisé. Courbe No 9bis. LAPIN de 1620 gr. immunisé.

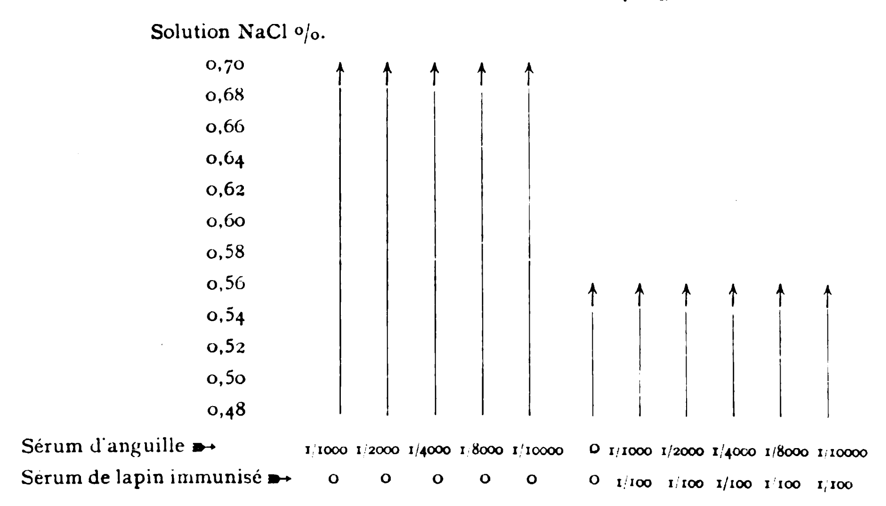



D'autre part, les courbes suivantes montrent que le sérum d'un animal immunisé empêche *in vitro* l'action dissolvante du sérum d'anguille sur les globules rouges (voyez courbes 10 et 11).

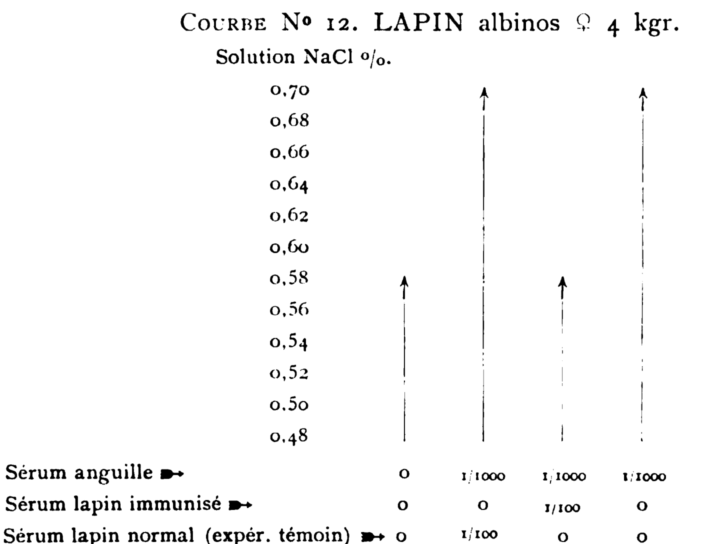



COURBE N° 11. LAPIN albinos ♀ 4 kgr.




Bien entendu, la contre-épreuve, c'est-à-dire l'expérience consistant à ajouter à l'ichtyotoxique, au lieu de sérum d'immunisé, une égale quantité de sérum d'un animal normal, ne donne qu'un résultat négatif : le sérum d'anguille conserve, dans cette condition, tout son pouvoir globulicide, comme on peut le voir sur la courbe n° 12.



COURBE N° 12. LAPIN albinos ♀ 4 kgr.

Quand la quantité injectée de sérum d'anguille a été trop faible (doses insuffisamment répétées), la réaction de l'organisme qui conduit à l'état réfractaire n'a pas lieu; ni les globules des animaux ne deviennent résistants, ni leur sérum ne devient antiglobulicide.

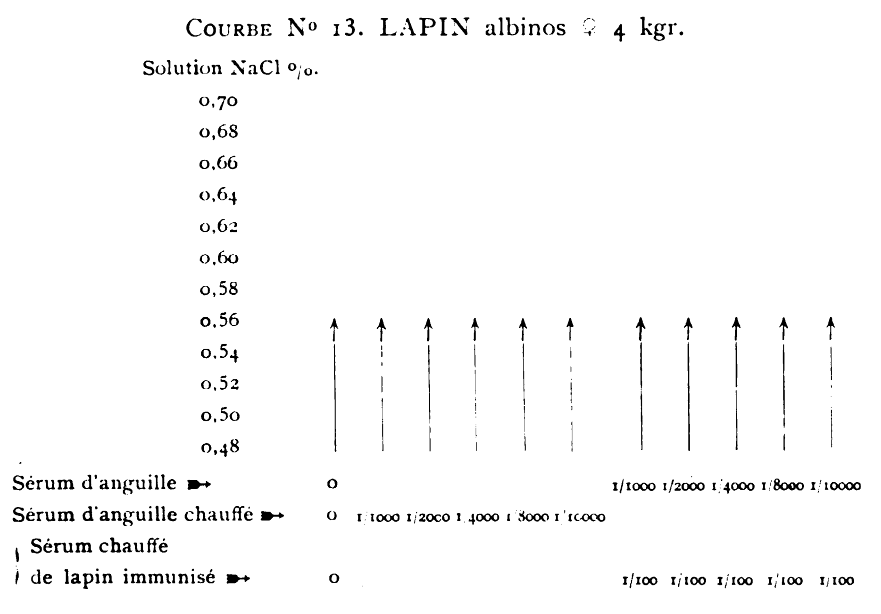
Le sérum des animaux immunisés présente ce caractère remarquable de pouvoir être chauffé à 58° pendant 15 minutes et plus, sans perdre la propriété spécifique qu'il a acquise. Il se comporte donc vis à vis de la chaleur d'une manière absolument différente du sérum d'anguille; ce dernier, on se le rappelle (voyez p. 267), chauffé à 58° pendant un quart d'heure, cesse d'être globulicide. Il y a là un caractère différentiel que nous utiliserons plus loin. La courbe n° 13, p. 295, montre nettement ces deux faits.

2. *Conséquences du phénomène.* — Les deux principaux résultats de ces expériences sont très clairs. En premier lieu, le sang des animaux immunisés a acquis une résistance extraordinaire au sérum d'anguille. Le sang d'un animal très sensible à l'action de ce sérum, le lapin, par exemple, devient à cet égard comparable à celui d'un animal naturellement réfractaire, comme le hérisson. La question est maintenant de savoir si cette résistance naturelle des globules rouges du hérisson et la résistance acquise des globules de ces lapins tiennent à une propriété des globules eux-mêmes ou à quelque substance du plasma sanguin qui agirait comme antagoniste du sérum d'anguille. C'est ce que nous examinerons plus loin.

Le second résultat sur lequel nous insistons, c'est que le sérum des animaux immunisés empêche l'action globulicide du sérum d'anguille.

Par le fait de l'immunisation le sérum sanguin a donc acquis une propriété nouvelle.

Ici se posent quelques questions intéressantes. On peut se demander




comment le sérum des animaux immunisés acquiert la propriété antitoxique et, d'autre part, en quoi consiste cette dernière, si elle est d'ordre chimique ou physiologique. L'importance est grande de ces questions, au point de vue de la doctrine de l'immunité.

3. *Formation de la substance antiglobulicide dans l'organisme; conditions de cette formation.* — Comment le sérum devient-il antiglobulicide? Il nous a semblé qu'il y a au moins deux manières d'aborder ce problème. On peut d'abord se demander si, en immunisant des animaux contre une substance globulicide, quelle qu'elle soit, on ne les rendrait pas *ipso facto* réfractaires à l'action globulicide du sérum d'anguille. Il y avait là une généralisation qui, si elle eût été vérifiée par l'expérience, n'eût pas manqué d'être intéressante. C'est dans cette idée que nous avons essayé d'immuniser des lapins contre l'ichtyotoxique au moyen de sérum de chien. Ces essais nous ont donné des résultats négatifs. Il est, pour cette raison, sans intérêt, croyons-nous, de relater les protocoles de ces expériences et de présenter les courbes qu'elles nous ont fournies. Semblablement, les globules de ces animaux n'avaient point acquis de résistance au sérum d'anguille et leur sérum sanguin ne manifestait aucune propriété antitoxique vis à vis de celui de l'anguille.

Nous nous sommes alors demandés si le fait seul de la mise en liberté de l'hémoglobine dans le sang ne suffirait pas à rendre les globules plus résistants. Nous avons cherché dans ce but quel serait l'effet d'injections, répétées à divers intervalles, de solutions d'hémoglobine; nous avons employé du sang de lapin laqué. Ces expériences ont été négatives comme les précédentes. Toutefois nous avons remarqué que les globules d'un animal (lapin) qui avait reçu plusieurs injections de sang laqué (20 c.c. en 4 jours), avaient acquis une légère résistance au sérum d'anguille; ils ne laissaient plus diffuser leur hémoglobine dans la solution à 1/6000.

De tout ce qui précède faut-il conclure que, pour que l'organisme puisse être mis en état de produire une antitoxine donnée, il est nécessaire qu'il ait préalablement reçu la toxine correspondante? Cette conclusion est infirmée par notre seconde série d'expériences.

On pouvait, en effet, penser que, en préservant des animaux contre l'action toxique générale du sérum d'anguille, on rendrait leurs globules réfractaires à l'action dissolvante si intense de ce liquide. Mais on a vu (p. 279—288) que ces essais d'immunisation n'avaient pas été très heureux. De même, au point de vue spécial auquel nous sommes maintenant placés, aucun des liquides que nous employions dans ce but n'a manifesté de propriété antiglobulicide, ni le sérum d'anguille chauffé, ni le sérum de hérisson, chauffé ou non, ni le sérum antivenimeux, ni l'antiplasmase, ni les solutions de leucine ou de tyrosine.— Seul, le sérum d'animaux ayant reçu du sérum d'anguille chauffé nous a donné des résultats positifs. Pour que le sang des animaux que l'on veut immuniser par ce procédé devienne antitoxique, il est nécessaire que l'on injecte à ces animaux pendant assez longtemps d'assez grandes quantités de sérum chauffé. Le sérum d'un animal (lapin ou cobaye) qui n'a reçu que 1 ou 2 c.c. de sérum chauffé ne manifeste pas de propriété antiglobulicide. Voici au contraire un lapin (♂ de 1529 gr.) qui a reçu en 9 jours 4,9 c.c. de sérum chauffé; une saignée carotidienne, faite à cet animal deux jours après la dernière injection, a fourni un sérum nettement antitoxique; on peut en juger par la courbe n° 14, p. 297. On voit par cette expérience qu'une dilution de ce sérum à 1/100, que celui-ci ait été ou non chauffé (le chauffage, comme nous l'avons déjà dit, ne détruit pas l'antitoxine), neutralise l'action d'une dilution de sérum d'anguille à 1/2000, mais ne peut détruire l'effet d'une dilution à 1/1000. Ce dernier résultat est intéressant à rapprocher du fait que l'on constate sur les courbes n^os^ 11 et 12, où l'on voit le sérum de lapin immunisé à 1/100 neutraliser encore la dilution à 1/1000 de sérum d'anguille; il faut donc admettre que, dans les cas où l'immunité se produit sous l'influence

du sérum d'anguille chauffé (non toxique par conséquent), il y a dans l'organisme formation moindre d'antitoxine que dans le cas où l'immunité se produit sous l'influence de la toxine elle-même; en d'autres termes, il y a réaction moindre de l'organisme.

Courbe N° 14. LAPIN albinos ♀ 1960 gr.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Solution NaCl 0,66 °/o | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | Diffusion constatée après 7 h. et après 24 h. |
| Sérum d'anguille ➞ | 1/1000 | 1/2000 | 1/4000 | 1/8000 | 1/10000 | |
| Solution NaCl 0,66 °/o | ↑ | o | o | o | o | Constatations faites après 7 h. et après 24 h. |
| Serum d'anguille ➞ | 1/1000 | 1/2000 | 1/4000 | 1/8000 | 1/10000 | |
| Sérum de lapin immunisé ➞ | 1/100 | 1/100 | 1/100 | 1/100 | 1/1000 | |
| Solution NaCl 0,66 °/o | ↑ | o | o | o | o | Idem. |
| Sérum d'anguille ➞ | 1/1000 | 1/2000 | 1/4000 | 1/8000 | 1/10000 | |
| Sérum chauffé 15' à 58° de lapin immunisé ➞ | 1/100 | 1/100 | 1/100 | 1/100 | 1/100 | |

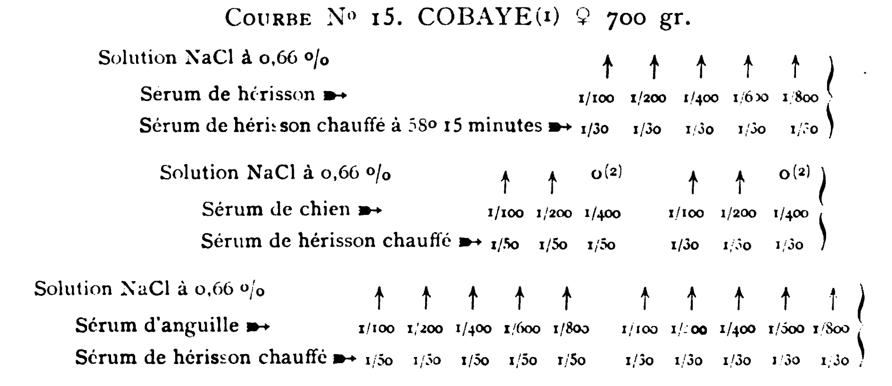
Ces observations ne présentent-elles pas une grande portée théorique? Il convient de se rappeler que le sérum d'anguille chauffé a perdu tout pouvoir globulicide. Or, il n'en reste pas moins pour cela susceptible de donner lieu à la formation d'une substance spécifiquement antitoxique qui passe dans le plasme sanguin(1). Il n'est donc pas, ce semble, nécessaire qu'il y ait à un moment donné une toxine dans l'organisme pour que celui-ci puisse produire l'antitoxine correspondante. Nous apportons ici une preuve très simple, facile à donner *in vitro,* de ce fait. Remarquons encore que, dans ce cas, c'est à dire sans qu'il y ait eu intervention préalable d'une toxine, il peut y avoir réalisation de l'état d'immunité active (immunité active d'Ehrlich). Bien entendu, il faudrait se garder de généraliser cette proposition. Toujours est-il cependant que, dans le cas particulier, sa vérité apparaît certaine(2).

(1) On pourrait, il est vrai, nous objecter que le sérum d'anguille chauffé contient encore de très petites quantités de substance toxique. Il est facile de répondre qu'il est impossible d'y déceler trace de substance globulicide, puisque dans ce sérum tel quel, si l'on y fait tomber une goutte de sang, les globules restent intacts. A la vérité, de ce que ce sérum ne détruit plus les globules, il ne suit pas nécessairement qu'il ne puisse altérer d'autres éléments cellulaires de l'organisme, plus sensibles que les hématies. Aussi bien, le sérum chauffé, comme nous l'avons montré, est encore susceptible, dans quelques cas, et à dose extrêmement forte, de determiner des accidents nerveux passagers. En conclura-t-on qu'il contient encore un peu de toxine spécifique pouvant donner lieu à la réaction organique qui aboutit à la formation d'antitoxine (substance antiglobulicide)?

(2) On avait bien montré déjà que des substances non spécifiques peuvent conférer l'immunité, mais l'immunité passive, contre certaines infections ou intoxications (voyez

Il est facile de démontrer en effet que le sérum d'anguille chauffé n'a pas par lui-même la propriété antiglobulicide; celle-ci ne peut lui venir du sérum normal, où ne préexiste pas d'antitoxine à côté de la toxine; s'il en était autrement, le chauffage qui, nous le savons, abolit la propriété globulicide, sans altérer la propriété antiglobulicide, ferait du même coup apparaître cette dernière. Or, de nombreuses expériences, dans lesquelles nous avons mélangé du sérum chauffé à du sérum normal et vu que ce dernier conserve toute son activité, ne nous permettent pas de tenir cette interprétation pour exacte.

COURBE N° 15. COBAYE(1) ♀ 700 gr.




Nous pouvons même généraliser ce fait. Car nous avons reconnu que les autres sérums globulicides, le sérum de chien, par exemple, ou celui de hérisson, qui, chauffés à 58° pendant 15 minutes, ont perdu tout pouvoir globulicide, n'ont nullement acquis pour cela de propriété antiglobulicide. Ainsi le sérum de chien chauffé n'empêche point l'action dissolvante du

particulièrement un travail déjà cité de CALMETTE et DELÉARDE, dans les Annales de l'Institut PASTEUR, X, p. 675—707, 1896); et cette question a pris plus d'importance depuis les recherches de PHISALIX (Soc. de Biol., 1897 et 1898) sur les propriétés vaccinantes de substances chimiquement définies, comme la cholestérine, la tyrosine, etc. Dans d'autres expériences PHISALIX (*La propriété préventive du sérum antivenimeux résulte d'une réaction de l'organisme : c'est donc en réalité une propriété vaccinante.* Comptes rendus de la Soc. de Biol., 5 mars 1898, p. 253) a montré qu'avec des doses très faibles de sérum antivenimeux on peut vacciner des animaux contre le venin de vipère et que le sérum de ces animaux devient à son tour susceptible de vacciner d'autres animaux, sans être toutefois antitoxique; il y a donc dans ce cas production par l'organisme d'une substance vaccinante, mais sous l'influence d'une substance vaccinante elle-même.

(1) Nous nous sommes assurés que, dans les mêmes conditions, les globules du lapin réagissent de la même façon.

(2) Le sérum normal de chien, à cette dilution (entre 1/400 et 1/600), ne manifeste en général plus de pouvoir globulicide.

sérum normal de chien sur les globules du cobaye. Le sérum de hérisson, dont les globules rouges sont, comme nous l'avons vu, extrêmement résistants à l'action du sérum d'anguille, ne contient pourtant pas trace de substance antiglobulicide. Quoiqu'il s'agisse là d'une observation négative, en raison de son importance nous en donnerons un spécimen dans la courbe nº 15.

De toutes ces données il résulte que la substance antitoxique, formée dans l'organisme sous l'influence soit de la toxine elle-même, soit exceptionnellement d'autres corps qui donnent lieu à la même réaction que cette toxine, est spécifique; elle n'a pas, en effet, le pouvoir de neutraliser d'autres toxines dont l'action physiologique paraît cependant identique.

Dans le même ordre d'idées, d'autres problèmes seraient à résoudre, concernant le mode de formation de l'antitoxine dont nous nous occupons. Où se forme cette substance? Aux dépens de quels corps se produit-elle? Ce sont là des questions sur lesquelles nous n'avons pas porté nos investigations.

4. *Nature de l'action antiglobulicide.* — L'autre question que nous avons essayé de résoudre est celle-ci : en quoi consiste l'action antitoxique, est-elle d'ordre chimique ou physiologique?(1)

Dans nos expériences, comme dans celles de EHRLICH sur l'influence de la ricine et de l'antiricine sur la coagulation du sang, le problème est ramené à ses termes les plus simples : une quantité très petite (dans notre cas, une quantité infinitésimale) de matière suffisant à modifier le globule rouge de telle sorte que cet élément laisse diffuser sa substance colorante, une quantité non moins faible et proportionnelle d'une autre matière suffit à empêcher la première de produire cette altération de l'élément anatomique. On peut penser que, dans les deux cas, c'est le globule lui-même qui réagit; et, dans le second cas, quand il se trouve en contact avec l'antitoxine, sa perméabilité ne peut plus être accrue par la toxine; c'est sa résistance, au contraire, qui a augmenté. De fait, dans quelques expériences, le sérum antiglobulicide nous a paru augmenter légèrement la résistance normale des globules rouges du lapin.

Ou bien on peut penser que l'antitoxine se combine avec la toxine, de manière à neutraliser cette dernière; ce serait là un véritable phénomène de neutralisation chimique. C'est, on le sait, l'interprétation que EHRLICH a donnée de ses expériences sur l'antagonisme de la ricine et de l'antiricine.

(1) Cette question a été pour nous l'objet d'une note préliminaire (L. CAMUS et E. GLEY : *Sur le mécanisme de l'immunisation contre l'action globulicide du sérum d'anguille.* Comptes rendus de l'Acad. des Sc., CXXVII, p. 330, 8 août 1898).

C'est l'interprétation la plus simple. La façon même d'ailleurs dont se passe le phénomène est en sa faveur; l'antitoxine agit sur la toxine suivant la loi chimique des proportions simples; c'est donc que les deux corps se combinent. Aussi bien, les doses d'antitoxine qui, *in vivo,* neutralisent des doses mortelles de toxine, sont avec ces dernières dans le même rapport simple.

Nos expériences nous permettent-elles d'admettre de préférence l'une ou l'autre de ces théories?

Rappelons d'abord que les globules rouges du hérisson possèdent une résistance considérable à l'action destructive du sérum d'anguille; cependant le sérum de cet animal ne contient pas d'antitoxine. En effet, nous avons vu que, si la substance globulicide perd tout son pouvoir, quand on chauffe le sérum à 58° pendant 15 minutes, au contraire, la substance antitoxique qui se trouve dans le sérum des animaux immunisés n'est nullement altérée par ce chauffage. Chauffons donc du sérum normal de hérisson, animal naturellement réfractaire à l'action du sérum d'anguille; ce sérum chauffé ne devient en aucune façon susceptible de s'opposer à l'effet de l'ichtyotoxique sur les globules rouges du lapin ou du cobaye (voyez la courbe n° 15). Ce n'est donc pas grâce à la présence dans leur sang d'une antitoxine pouvant neutraliser chimiquement la toxine introduite que les hérissons sont pourvus d'une immunité naturelle contre le sérum d'anguille, mais leurs globules possèdent une résistance spécifique(1). — Rappelons encore ici que le sérum d'anguille chauffé, comme nous l'avons vu, ne manifeste non plus aucune propriété antiglobulicide. Ce ne peut donc être qu'en vertu de leurs propriétés physiologiques que les globules rouges de cet animal résistent à l'action si énergique de la substance globulicide qui circule dans son propre sang(2).

---

(1) Il serait curieux de voir si l'on ne pourrait pas faire produire à l'organisme de ces animaux des substances antitoxiques (la substance antiglobulicide, dans le cas qui nous occupe). C'est ce que nous avions commencé à chercher sur deux hérissons; malheureusement ces animaux sont morts au cours de la période d'immunisation. — Calmette et Deléarde (travail cité) se sont déjà posés cette intéressante question et l'ont résolue affirmativement, en constatant que le sérum de poule immunisée contre l'abrine (la poule est un animal naturellement peu sensible à l'abrine) a acquis la propriété d'immuniser le lapin contre cette toxine végétale.

(2) Calmette et Deléarde (loc. cit.) soutiennent de même « qu'il n'existe, dans le sang des reptiles, aucune substance antitoxique capable de justifier l'immunité relative qu'ils possèdent à l'égard du venin, ou que, si cette substance existe, elle se trouve juxtaposée à une substance toxique dont il ne nous a pas été possible de la séparer » (p. 680). On sait que Phisalix et Bertrand (*Sur l'emploi du sang de vipère et de couleuvre comme substance antivenimeuse.* Soc. de Biol., 23 novembre 1895, p. 751) ont émis l'idée absolument contraire.

Ne serait-il pas très intéressant de rapprocher ces faits de la série de ceux qui ont montré que le sang d'animaux pourvus de l'immunité naturelle contre telle ou telle infection microbienne ne possède pas de propriétés bactéricides?

Il y a là, par conséquent, un mode d'immunité parfaitement défini, que l'on pourrait appeler *cytologique* (immunité *histogène* de BEHRING). Il concerne, qu'on le remarque, l'immunité naturelle. La question se pose donc irrésistiblement de savoir s'il en est de même pour l'immunité acquise. Voici comment nous avons essayé de résoudre le problème.

Un animal (lapin, par exemple) étant immunisé contre le sérum d'anguille, on lui fait une saignée (soit par la carotide, soit par la fémorale); le sang est reçu dans de l'oxalate neutre de potasse, pour empêcher la coagulation (c'est-à-dire à la dose de 2 °/₀₀), puis on le soumet à l'action de la force centrifuge; après seize heures on décante le plasma. On opérera, d'une part, avec ce plasma. D'autre part, la bouillie globulaire est soigneusement lavée deux fois de suite avec une solution hyperisotonique de chlorure de sodium et finalement on la dilue avec un volume de cette même solution égal au volume du plasma. Il est indispensable que toutes ces opérations soient réalisées aseptiquement.

Comment se comportent ces globules et ce plasma vis à vis du sérum d'anguille? Il faut distinguer deux cas, suivant que l'animal a été immunisé avec le sérum normal d'anguille ou avec ce sérum chauffé.

Dans ce dernier cas, les globules ne résistent pas plus à l'action destructive du sérum d'anguille que les globules d'un animal témoin (le sang de cet animal non immunisé ayant été traité exactement de la même façon). Au contraire le plasma contient la substance antiglobulicide que nous avons accoutumé de trouver dans le sérum des animaux immunisés. Ici, par conséquent, les globules de l'animal immunisé n'ont acquis aucune propriété spécifique de la part de l'antitoxine qui circule cependant avec eux dans le sang, de la part de la substance spécifique qui les baigne. Si donc ils résistent à l'action de la toxine, quand ils y sont soumis, ce ne peut être que parce que l'antitoxine empêche cette action de s'exercer. Le phénomène ne paraît guère explicable autrement que par l'action des deux substances l'une sur l'autre, par la neutralisation chimique de la toxine par l'antitoxine (théorie d'EHRLICH). A admettre une action de l'antitoxine sur l'élément anatomique et non sur la toxine, on serait obligé de supposer que les propriétés des globules rouges (perméabilité diminuée, résistance accrue), tenant à la constitution physico-chimique de ces éléments, ne se trouvent modifiées qu'autant et tant qu'ils sont en contact avec l'antitoxine

dès que celle-ci a été éliminée du milieu, ils redeviendraient semblables à des globules ordinaires. Mais contre cette explication, purement hypothétique d'ailleurs, on peut invoquer les expériences qui établissent qu'il y a proportionnalité simple entre les quantités d'antitoxine et de toxine qui se neutralisent, c'est-à-dire en définitive que le phénomène se développe comme un phénomène chimique. C'est ce qui est arrivé aussi bien dans les expériences de EHRLICH avec la ricine et l'antiricine et dans celles de STEPHENS et MYERS avec le venin de serpents et le sérum antivenimeux que dans les nôtres et celles de H. KOSSEL avec le sérum d'anguille et le sérum antiglobulicide.

On est donc amené à penser qu'il y a là un second mode d'immunité tout à fait différent du premier, immunité d'ordre chimique, tenant à l'action chimique réciproque de deux substances, et que l'on peut appeler *humorale* (immunité par une substance contenue dans les humeurs), par opposition à l'immunité cytologique. Or, il s'agit ici d'une immunité acquise. Celle-ci, dans le cas tout au moins du sérum d'anguille, pourrait dépendre conséquemment d'un tout autre mécanisme que l'immunité naturelle.

Hâtons-nous cependant de faire une réserve, qui tient à la distinction que nous avons indiquée plus haut, entre l'immunisation par le sérum d'anguille normal et l'immunisation par ce même sérum chauffé. C'est ce dernier cas que nous venons de considérer. Mais dans le premier cas les choses sont plus complexes. Il se forme bien toujours et l'on trouve bien toujours dans le sérum sanguin et dans le plasma une substance antitoxique, mais les propriétés essentielles des globules rouges se modifient aussi ; la résistance de ces éléments augmente et tend à devenir comparable à celle des globules d'un animal naturellement réfractaire, comme le hérisson. C'est ce qu'il est facile de reconnaître au moyen d'une expérience identique à celle que nous exposions tout à l'heure. Sur un animal (lapin) immunisé par de petites doses répétées de sérum d'anguille, on fait une saignée, on sépare par la centrifugation les globules du plasma, on lave les globules, comme il a été dit, pour les débarrasser de toute trace d'antitoxine, et on éprouve leur résistance vis à vis de l'ichtyotoxique. On constate que cette résistance est augmentée (1). On constate, d'autre part,

(1) Ce fait a été brièvement, mais très clairement, signalé par H. KOSSEL (loc. cit.). Voici, en effet, ce qu'il dit à ce sujet : « Ich prüfte die vom antitoxischen Serum sorgfältig befreiten rothen Blutkörperchen meiner immunisirten Kaninchen auf ihr Verhalten gegenüber dem Aalgift und konnte feststellen, dass sie widerstandfähiger gegen die auflösende Wirkung des Giftes geworden waren und zwar entsprechend dem Grade der Immunität der Thiere. » — Mais dans cette expérience comme dans celle que

que le plasma contient une substance antiglobulicide. Dans nos expériences la résistance des globules a été quelquefois assez peu augmentée pour que nous ayons pu nous demander si cette légère modification ne tiendrait pas à la présence d'une très petite quantité d'antitoxine, persistant malgré le lavage des globules. Pour être assuré qu'il n'en est rien, il faut voir la résistance des globules augmenter à mesure que l'immunisation devient plus profonde. — Le processus d'immunisation aboutit dans ce cas à une modification dans la constitution des éléments anatomiques qui sont en jeu, telle que cette constitution devient analogue à celle que présentent les mêmes cellules chez les animaux pourvus de l'immunité naturelle. Les deux sortes d'immunité, immunité active d'Ehrlich l'une et l'autre, coexistent par conséquent ici, l'immunité humorale et l'immunité cytologique.

De ces données sortent par voie déductive des conséquences assez importantes. Pour certaines infections ou intoxications deux modes d'immunité paraissent possibles, l'un qui consiste en la formation dans l'organisme d'une antitoxine et l'autre, dans lequel s'ajoutent à ce phénomène des modifications cellulaires profondes. N'est-on pas enclin à penser que cette dernière réaction doit constituer une immunité plus sûre à la fois et plus durable? Ne sait-on pas, en effet, que souvent, dans beaucoup d'infections, l'immunité existe encore, alors qu'il n'y a plus d'antitoxine dans le sang? A ce point de vue, il serait intéressant de rechercher si, au fur et à mesure que se développe l'immunité cytologique, l'immunité humorale ne s'affaiblit pas, si l'antitoxine n'est pas formée en moindre quantité ou même ne disparaît pas. Le second mode serait ainsi un procédé d'abord mis en l'œuvre par l'organisme comme plus facile et plus rapide, mais auquel peut faire suite le premier.

Comment comprendre, il est vrai, la substitution de l'un à l'autre ou même la simple coexistence des deux modes? Le cas dont il s'agit ici, immunisation contre le sérum d'anguille, offre encore cet avantage de fournir peut-être aussi sur ce point difficile une explication plausible. La toxine détruisant des globules rouges en plus ou moins grand nombre, les globules nouveaux, formés quand le plasma dans lequel ils sont baignés a subi des modifications assez profondes, ne doivent-ils pas subir à leur tour

---

nous donnons ici même, il conviendrait sans doute, pour apprécier à sa valeur l'augmentation de résistance signalée des hématies, de tenir compte de ce fait que, sous l'influence de l'injection de toxine, les globules les moins résistants ont été nécessairement détruits; il faudrait par suite distinguer entre l'augmentation apparente de résistance globulaire, tenant à ce phénomène, et l'augmentation réellement due au processus immunisant.

l'influence de ce plasma et acquérir des propriétés qui diffèrent de celles des globules dont la genèse se fait au contact d'un plasma normal? Ainsi naîtraient et se développeraient des éléments anatomiques pourvus d'une propriété nouvelle. Dans cette hypothèse, on rendrait compte plus aisément de la persistance de l'immunité acquise vis à vis de diverses infections et même de la transmission héréditaire de cette immunité.

## III. — Conclusions.

Ces expériences sur l'immunisation contre le sérum d'anguille nous ont permis d'établir sur des preuves très simples, *in vitro*, quelques données qui ne laissent pas de paraître intéressantes : le fait de la réaction directe d'une antitoxine sur une toxine; l'atténuation d'une toxine par le chauffage et la non-atténuation de l'antitoxine; la formation d'une antitoxine par une réaction de l'organisme produite sans intervention de la toxine correspondante; le moyen, par l'étude d'une réaction cellulaire simple, de constater l'apparition de l'antitoxine et de suivre les variations de l'activité de cette substance; la détermination de la nature des deux sortes d'immunité, la naturelle, qui tient à une propriété de cellule, et l'acquise, qui dépend des propriétés d'une antitoxine et de la neutralisation chimique de la toxine par cette antitoxine; la détermination, dans l'immunité acquise elle-même, à côté de ce mécanisme chimique, d'un mécanisme perfectionné, qui n'est autre chose qu'une immunisation d'ordre cytologique, comme est l'immunité naturelle.

## APPENDICE.

Nous nous étions proposés d'étendre cette étude du sérum d'anguille et de rechercher si les venins et diverses toxines microbiennes ne possèdent pas non plus une action globulicide.

Nous avons constaté que le venin de serpents qui nous avait été envoyé par M. Calmette (mélange de trois venins) ne possède qu'une très faible action dissolvante sur les globules rouges du cobaye; à la dose de 1/50 il est encore sans effet; il faut arriver à la dose de 1/30 pour observer la diffusion de l'hémoglobine dans une solution salée légèrement hyperisotonique (0,66 NaCl °/₀). D'autre part, nous avons vu que le sérum antivenimeux (de Calmette) n'a aucune influence sur l'action globulicide du sérum d'anguille. Nous avons déjà dit pourquoi (voyez p. 291) nous n'avions pas poursuivi ces essais.

Quant aux toxines microbiennes, nous n'avons fait d'expériences qu'avec un échantillon de toxine diphtérique qui nous avait été très

obligeamment donné à l'Institut PASTEUR; cette toxine nous a paru n'avoir aucune action globulicide; il est vrai qu'elle avait été chauffée, et il est possible que le chauffage empêche plus ou moins cette action. Il faudrait donc recommencer ces essais avec une toxine non chauffée(1).

*Paris, octobre 1898.*

(1) Nous ne croyons pas que des expériences semblables aient été déjà réalisées. Mais un élève du professeur PISENTI (de Pérouse), G. B. BIANCHI-MARIOTTI (*Azione dei prodotti solubili dei microrganismi sull' isotonia e sul contenuto emoglobinico del sangue.* Lavori dell' Istituto anatomo patologico dell' Universita di Perugia, III, 1893. — *L'isotonia del sangue nelle infezioni sperimentali.* Ibidem, IV, 1897.) a fait d'intéressantes recherches sur les variations de l'isotonie globulaire normale chez le lapin, sous l'influence d'injections de diverses toxines ou de cultures virulentes; il a constaté, dans ces cas, une diminution de la résistance normale des hématies; cette diminution est souvent assez faible.

# 16. Contribution à l'étude des substances méthémoglobinisantes

PAR

Paul MASOIN.

Après être demeurée longtemps dans l'ornière de l'empirisme, l'étude des antitoxiques est entrée ces dernières années dans une voie nouvelle, et si les résultats acquis ne sont pas nombreux, ils sont tels cependant, que les bases sur lesquelles ils reposent, les méthodes qui y ont conduit, permettent d'affirmer que vraiment aujourd'hui l'on se trouve dans la bonne voie. En parlant ainsi, nous n'avons pas en vue — est-il besoin de le dire — les antidotes physiologiques, mieux appelés fonctionnels ou antagonistes, c'est-à-dire que les effets déterminés par ces substances neutralisent des symptômes contraires, comme le ferait, par exemple, une substance paralysante vis-à-vis d'un convulsivant. On l'a déjà compris, nous visons la découverte de divers sérums, sérum antidiphtérique, antitétanique, antistreptococcique, pour ne citer que ceux dont l'efficacité est généralement reconnue; nous avons en vue les travaux de Fraser et de Calmette sur le sérum antivenimeux; nous avons en vue la découverte par Lang(1) de l'action antitoxique de l'hyposulfite de soude vis-à-vis du cyanure de potassium, ainsi que les travaux plus récents(2) exécutés dans ce laboratoire, ayant pour objet l'étude des dinitriles normaux et des monitriles ainsi que l'action antitoxique chimique de ce même hyposulfite de soude vis-à-vis de ces produits.

Le présent mémoire a pour but de faire connaitre l'existence d'un

---

(1) *Ueber Entgiftung der Blausäure.* Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, 1895, Bd. XXXVI.

(2) J. F. Heymans et P. Masoin : *Etude physiologique sur les dinitriles normaux.* Mémoires couronnés de l'Académie de médecine de Belgique, 1896; Archives de pharmacodynamie, 1897, vol. III; R. Verbrugge : *Toxicité des mononitriles gras et aromatiques et action antitoxique de l'hyposulfite de soude vis-à-vis de ces mononitriles.* Arch. intern. de Pharmacodynamie, 1899, vol. V.

groupe de substances possédant une action antitoxique vis-à-vis de toute une catégorie de poisons, qui, introduits dans l'organisme, provoquent, entre autres symptômes, des modifications physiques, chimiques et physiologiques du sang, modifications incompatibles avec la vie : nous avons nommé les substances méthémoglobinisantes.

Nous n'étudierons pas les conditions si variées dont la formation de méthémoglobine est le résultat. Pour ce point, nous ne pouvons mieux faire que de renvoyer à l'excellent mémoire de P. DITTRICH(1) où la question est soigneusement étudiée sous ses divers aspects. Retenons seulement ce fait, que la méthémoglobine se produit dans de multiples circonstances, dans les conditions les plus diverses, et notamment, fait connu depuis longtemps d'ailleurs, sous l'action d'un grand nombre de substances médicamenteuses ou autres, qu'elles soient introduites dans le sang *in vitro*, ou qu'elles aient pénétré dans l'organisme.

La méthémoglobine, on le sait, donne au sang une coloration brune et fait apparaître dans le spectre sanguin des bandes d'absorption variables en nombre et en situation suivant la concentration de la solution et suivant la réaction du milieu; dans cet état, le sang est incapable de remplir sa fonction respiratoire, il n'absorbe plus d'oxygène, n'élimine plus d'anhydride carbonique, bref, l'asphyxie se produit.

Si l'on connaît de nombreux moyens capables de provoquer la transformation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine, si l'on en connaît d'autres, tels que le sulfure d'ammonium, capables de transformer *in vitro* la méthémoglobine en hémoglobine, l'on n'a pas signalé — que nous sachions du moins — de moyen de prévenir, d'empêcher même jusqu'à un certain point, la formation de la méthémoglobine aux dépens de l'oxyhémoglobine, *in vitro*, comme au sein de l'organisme. Ainsi que nous venons de le dire, tel est l'objet des recherches consignées dans le présent mémoire.

Il serait oiseux d'exposer comment et à la suite de quelles circonstances nous avons été mis sur la voie de ces recherches : parti d'une idée bientôt reconnue fausse par nous-même, mais nous laissant guider par l'observation exacte des faits, aidé aussi par le hasard, la question s'est présentée tout à coup à notre esprit; c'est pourquoi, si l'ordre suivi dans l'exposé n'est pas conforme à la filiation des idées, il possède d'autre part l'avantage de la clarté, de la simplicité, et l'argumentation s'en détachera d'autant plus nette et plus solide.

La première partie de ce travail est consacrée à un exposé succinct des

(1) Archiv f. exper. Path. und Pharmakol., 1892, vol. XXIX, p. 247.

caractères de l'intoxication par quatre substances méthémoglobinisantes, que, suivant les cas et les circonstances, nous avons étudiées chez différentes espèces animales. Nous y indiquons la dose mortelle et la durée de l'intoxication suivant nos propres déterminations; puis, d'une façon parallèle, nous verrons comment l'administration préalable de certains composés est capable d'entraver l'intoxication, à un degré variable suivant la nature et la dose du poison et suivant la nature de l'antidote, dont l'action peut, dans certains cas, être telle qu'elle empêche absolument l'intoxication de se produire. Dans la seconde partie de ce travail, nous dégagerons des faits accumulés dans la première partie le principe qui en ressort et nous en ferons la démonstration *in vitro*. Nous terminerons en formulant quelques hypothèses qui pourraient rendre compte du mécanisme de l'action antitoxique étudiée.

## CHAPITRE PREMIER.

Le nombre des substances méthémoglobinisantes est fort considérable. L'on en trouvera une liste très fournie, et, comme le dit l'auteur lui-même, encore incomplète, dans le travail de DITTRICH déjà cité plus haut. Un choix nous était nécessairement imposé en vue de nos expériences; nous nous sommes arrêté à quatre d'entre elles, à savoir : le nitrite de sodium, le chlorate de sodium, l'aniline et l'acétanilide.

Si nous les classons par ordre de puissance méthémoglobinisante, nous voyons que, d'une manière générale, le nitrite l'emporte de loin sur les autres; viennent après lui le chlorate de sodium et, bien après ces deux premiers, l'aniline et l'acétanilide.

Ces substances convenaient parfaitement au but que nous nous proposions : d'une administration facile, toutes quatre donnent lieu à la formation de méthémoglobine, mais à des degrés différents et avec une rapidité qui varie d'après ces substances elles-mêmes et suivant l'espèce animale à laquelle elles sont administrées (nous reviendrons plus loin sur ce point). Il était dès lors possible de poursuivre les diverses modalités de leur action méthémoglobinisante et toxique, modalités se traduisant d'autre part par une inégalité de puissance des substances antitoxiques.

### I. — Nitrite de sodium.

#### EXPÉRIENCES SUR LA GRENOUILLE.

L'injection du nitrite en solution dans l'eau distillée (5 et 10 °/₀) était faite dans le sac lymphatique dorsal. A dose égale, la concentration de la

solution n'exerce guère d'influence sur le résultat final; les solutions concentrées déterminent cependant une intoxication plus rapide que les solutions moins fortes. Il est utile de remarquer que nous avons opéré sur la grenouille rousse *(Rana temporaria)* et sur la grenouille verte *(Rana esculenta)* pendant la période d'hiver; la résistance de ces deux espèces nous a paru égale.

N'ayant pas l'intention de faire une étude physiologique de l'action du nitrite de sodium, pas plus que pour les trois autres substances que nous avons choisies, nous n'indiquons qu'à grands traits le tableau symptomatique qu'il détermine.

Le seul symptôme constant, après l'injection de doses de 0,2 mgr. à 0,3 mgr. par gramme d'animal, est l'accélération respiratoire. Celle-ci se produit très rapidement (cinq à sept minutes) après l'injection; ce peut être le seul symptôme extérieurement visible.

Pour des doses plus fortes, 0,5 mgr. par gramme d'animal, à la période d'accélération respiratoire fait suite une période de ralentissement, en même temps que la paralysie s'établit. Si l'on examine alors la muqueuse buccale, on constate l'existence d'une teinte grisâtre, d'un gris brun, en rapport avec la modification de coloration du sang qui s'est méthémoglobinisé, ainsi que le prouve l'examen fait en ce moment. Si la dose est mortelle (un peu plus de 0,50 mgr. par gramme), la paralysie demeure, la respiration devient de plus en plus rare, de plus en plus superficielle, et l'animal succombe sans convulsions; on le trouve affaissé, dans l'attitude ordinaire propre à la grenouille.

Nous donnons ici, dressée en tableau, la toxicité du nitrite de sodium chez la grenouille, ainsi que des indications sur les symptômes présentés.

| Numéro | Poids | Quantité de nitrite injectée | Quantité de nitrite par gr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | mgr. | mgr. | | |
| 1 | 22 | 2,5 | 0,11 | — | L'animal n'a rien présenté. |
| 2 | 24 | 5,0 | 0,20 | — | Accélération respiratoire et légère parésie. |
| 3 | 19,5 | 5,0 | 0,25 | — | Id. id. |
| 4 | 21,5 | 7,5 | 0,35 | — | Paralysie; intoxication très grave; durée, 5 à 6 heures. |
| 5 | 18 | 7,5 | 0,41 | — | Paralysie; durée, 3 heures environ. |
| 6 | 17,5 | 7,5 | 0,43 | — | Intoxication très grave; durée, 6 heures environ. |
| 7 | 22 | 10,0 | 0,45 | — | Id. id. |
| 8 | 20 | 10,0 | 0,50 | — | Id. id. |
| 9 | 28 | 15,0 | 0,53 | † | Paralysie, puis amélioration notable; mort envir. 12h. après. |
| 10 | 23 | 12,5 | 0,54 | † | Succombe en 1 1/2 heure environ. |
| 11 | 35 | 20,0 | 0,55 | † | Id. |

Par conséquent, la dose mortelle du nitrite de sodium chez la grenouille est d'environ 0,55 mgr. par gramme d'animal. Pour cette dose, la mort survient au bout d'une heure et demie environ.

Après avoir indiqué d'une façon générale la marche de l'intoxication par le nitrite de sodium chez la grenouille, voyons ce qu'elle devient lorsqu'on administre préalablement l'une ou l'autre substance que l'expérience nous a indiquée comme possédant une action antitoxique. C'est ainsi que nous passerons successivement en revue l'action que peuvent exercer le carbonate, le bicarbonate, l'acétate de soude, d'une part, et le sulfate ainsi que le chlorure de sodium, d'autre part (1).

Disons une fois pour toutes, que l'injection de ces substances était pratiquée dans l'un des sacs lymphatiques fessiers, l'aiguille étant introduite au niveau du jarret, poussée jusqu'à la racine de la cuisse, et une légère ligature étant alors jetée au dessous de l'endroit d'injection.

Une heure environ après cette injection, le nitrite était administré dans le sac lymphatique dorsal; nous évitions ainsi le contact immédiat des deux substances à l'endroit d'application.

**Carbonate de sodium et nitrite.**

(Dose mortelle du nitrite = 0,55 mgr. par gramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de carbonate injectée | Intervalle | Quantité de nitrite par gr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | mgr. | min. | mgr. | | |
| 1 | 18 | 10 | 50 | 0,55 | — | 1 heure, état normal.<br>Lendemain matin, même état. |
| 2 | 17 | Id. | Id. | 0,59 | — | 1 heure, grenouille normale.<br>Lendemain matin, normale (?). |
| 3 | 15,5 | Id. | Id. | 0,64 | † | 1 heure, normale.<br>Lendemain matin, normale (?) Dans la soirée, donc plus de 24 heures après l'injection, succombe. Sang : méthémoglobine. |
| 4 | 21,5 | Id. | Id. | 0,70 | — | 1 heure, normale.<br>Lendemain matin, paralysie. Soir, normale.<br>1 heure, normale. |
| 5 | 21 | Id. | Id. | 0,71 | † | Lendemain matin, normale. Après-midi (24 heures après l'injection), succombe. Méthémoglobine. |
| 6 | 25 | Id. | Id. | 0,80 | † | 1 heure, forte paralysie.<br>Lendemain matin, parésie.<br>Succombe dans le courant de la journée, donc environ 18 heures après l'injection du nitrite. Sang : méthémoglobine. |
| 7 | 25 | Id. | Id. | 0,80 | † | 1 heure, parésie.<br>Lendemain matin, parésie.<br>Succombe dans la matinée, donc environ 18 heures après l'injection du nitrite. Sang : méthémoglobine. |

(1) Dans toutes nos expériences, ces substances sont calculées privées d'eau de cristallisation.

Par conséquent, l'injection préalable de carbonate de sodium permet d'élever de 0,55 à 0,60 mgr. par gramme la dose mortelle de nitrite; pour des doses plus considérables, il se produit un retard dans l'évolution de l'intoxication : tandis que 0,55 mgr. par gramme d'animal déterminent la mort au bout de deux heures (maximum), l'injection préalable de carbonate la retarde de dix-huit à vingt-quatre heures, la dose de nitrite étant de 0,7 à 0,8 mgr. par gramme d'animal.

**Bicarbonate de sodium et nitrite.**

(Dose mortelle du nitrite = 0,55 mgr. par gramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de bicarbonate injectée | Intervalle | Quantité de nitrite par gr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | mgr. | min. | mgr. | | |
| 1 | 25 | 10 | 40 | 0,50 | — | Le nitrite a été injecté à 8 heures du soir. Lendemain matin, parésie. Soir, état normal. |
| 2 | 18,5 | Id. | Id. | 0,53 | — | Id. |
| 3 | 23,5 | Id. | Id. | 0,63 | — | Id. |
| 4 | 18 | Id. | Id. | 0,69 | † | Lendemain matin, trouvée morte. Sang : méthémoglobine. |
| 5 | 21 | Id. | Id. | 0,71 | † | Lendemain matin, parésie (?). Meurt dans le courant de l'après-midi, donc 18 à 24 heures après l'injection du nitrite. |
| 6 | 16 | Id. | Id. | 0,79 | † | Trouvée mourante le lendemain matin. Meurt 13 à 14 heures après l'injection. |

Donc, l'injection préalable de bicarbonate de sodium permet d'élever la dose mortelle de nitrite d'environ 0,10 mgr. par gramme; toutefois, pour des doses d'environ 0,7 mgr. par gramme, l'apparition de l'intoxication paraît moins retardée à l'aide du bicarbonate qu'à l'aide du carbonate.

**Acétate de sodium et nitrite.**

(Dose mortelle du nitrite = 0,55 mgr. par gramme.)

| Numéro | Poids | Quantité d'acétate injectée | Intervalle | Quantité de nitrite par gr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | mgr. | | mgr. | | |
| 1 | 18 | 25 | 2 h. 30′ | 0,55 | — | 3 heures, état normal. 5 heures, id. 18 heures, id. |
| 2 | 19 | Id. | Id. | 0,65 | † | 3 heures, paralysie. Mort 5 heures après l'injection. |
| 3 | 24 | Id. | Id. | 0,79 | † | Mort 3 à 5 heures après l'injection. |

L'injection préalable d'acétate de sodium permet donc, ainsi que pour

le carbonate et le bicarbonate, d'élever légèrement la dose mortelle ; de même aussi, il se produit un retard dans l'évolution de l'intoxication.

**Sulfate de sodium et nitrite.**

(Dose mortelle du nitrite = 0,55 mgr. par gramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de sulfate injectée | Intervalle | Quantité de nitrite par gr. d'animal | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | mgr. | min. | mgr. | | |
| 1 | 16 | 25 | 75 | 0,55 | † | Accidents très marqués une heure après l'injection ; grenouilles trouvées mortes le lendemain matin. |
| 2 | 16,5 | Id. | Id. | 0,60 | † | |
| 3 | 30,5 | Id. | Id. | 0,73 | † | |
| 4 | 20 | Id. | Id. | 0,75 | † | |

**Chlorure de sodium et nitrite.**

(Dose mortelle du nitrite = 0,55 mgr. par gramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de chlorure injectée | Intervalle | Quantité de nitrite par gr. d'animal | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | mgr. | min. | mgr. | | |
| 1 | 18 | 25 | 75 | 0,55 | † | Accidents très graves après 1 heure. |
| 2 | 23 | Id. | Id. | 0,65 | † | Grenouilles trouvées mortes le lendemain matin. |
| 3 | 17,5 | Id. | Id. | 0,71 | † | |

Contrairement à ce que nous avons montré pour le carbonate, le bicarbonate et l'acétate de sodium, l'injection préalable de sulfate ou de chlorure de sodium n'exerce donc aucune influence sur la dose léthale et ne retarde en rien l'apparition des symptômes d'intoxication.

### Expériences sur le Lapin.

La toxicité du nitrite de sodium a été déterminée par injection sous-cutanée à l'aide de solutions fraîchement préparées ; comme pour la grenouille, nous avons utilisé des solutions dans l'eau distillée à 5 et à 10 °/₀.

Pour une demi-dose mortelle, soit environ 90 milligr. par kilogramme, deux symptômes apparaissent peu de temps (10 minutes) après l'injection, à savoir : la vaso-dilatation dans le pavillon de l'oreille, ainsi qu'une accélération des mouvements respiratoires. (Pour cette dose, nous avons exceptionnellement constaté des phénomènes moteurs consistant en un certain degré de parésie.) Cet état dure trente à quarante minutes, puis tout rentre dans l'ordre. Pour des doses plus fortes (130 à 150 milligr. par kilogramme), outre la vaso-dilatation et un état dyspnéique, on note

l'existence de troubles moteurs consistant en de la parésie, parfois même un état paralytique manifeste. A cette période aussi, on voit les vaisseaux du pavillon de l'oreille prendre une teinte foncée; si l'on examine alors quelques gouttes de sang recueilli par simple piqûre, on constate qu'il possède une coloration brunâtre, et l'examen spectroscopique indique nettement l'existence de méthémoglobine. Pour une dose de 150 à 160 milligr. par kilogramme, l'intoxication dure une heure et demie à deux heures. Si l'intoxication suit une marche régressive, tous les symptômes s'amendent, la teinte brune du sang disparaît, et dans un laps de temps assez court revient à la normale. Si, au contraire, l'intoxication est mortelle, la respiration devient de plus en plus pénible; à la vaso-dilatation auriculaire fait suite une vaso-constriction, l'animal répond de moins en moins aux excitations et succombe sans présenter de convulsions. La durée de l'intoxication pour une dose simplement mortelle (170 mgr. par kilogramme) est d'environ cinquante minutes.

Nous donnons ici quelques protocoles indiquant la marche de l'intoxication pour des doses de 150, 160 et 170 mgr. par kilogramme.

EXPÉRIENCE I. — *Lapin, 940 grammes.*

0 h. 0' Injection sous-cutanée, 140 mgr. de nitrite de sodium, soit 150 mgr. par kilogr.
0 h. 10' Etat dyspnéique manifeste; respiration, 180 à 200 par minute; vaso-dilatation auriculaire; température rectale, 39°.
0 h. 35' L'animal s'étend sur les membres antérieurs; respiration, 120 environ par minute, très pénible; température rectale, 37,9°; le sang du pavillon de l'oreille offre une teinte brune nette.
0 h. 50' Incline la tête sur le sol.
1 h. 0' La paralysie augmente considérablement; quelques frémissements dans la nuque.
1 h. 15' Animal complètement couché sur le ventre; température rectale, 35,8°.
1 h. 30' Etat paraît aggravé.
2 h. 0' Amélioration?
3 h. 0' Animal sensiblement normal.

EXPÉRIENCE II. — *Lapin 1200 grammes.*

0 h. 0' Injection sous-cutanée, 190 mgr. de nitrite de sodium, soit 160 mgr. par kilogramme.
0 h. 23' Respiration très accélérée, 120 à 150 par minute.
0 h. 28' Forte quantité de méthémoglobine dans le sang.
0 h. 33' Parésie; état dyspnéique persistant.
0 h. 53' Même état.
1 h. 30' Amélioration (?). Sang fortement méthémoglobinisé.
2 h. 0' Amélioration considérable; sang, encore légère teinte brune.
2 h. 30' Etat normal. Urines recueillies par la sonde : claires, pâles; absence d'albumine et de méthémoglobine.

EXPÉRIENCE III. — *Lapin 1300 grammes.*

o h. o' Injection sous-cutanée, 210 mgr. de nitrite de sodium, soit 171 mgr. par kilogramme.
o h. 5' Respiration, 55 à 60 par minute.
o h. 20' Respiration, 120 à 150 par minute; l'animal est parésié, s'allonge sur le ventre, répond de moins en moins aux excitations.
o h. 30' Paralysie; respiration, 180 à 200 par minute.
o h. 40' Respiration, plus de 200 par minute; des frémissements apparaissent dans divers muscles.
o h. 45' Respiration considérablement ralentie; suppression du réflexe cornéen; pas de convulsions.
o h. 50' Mort.

Ainsi que nous l'avons fait pour la grenouille, nous donnons en tableau la toxicité du nitrite de sodium chez le lapin, ainsi que des indications générales sur les symptômes présentés et sur la durée de l'intoxication.

| Numéro | Poids | Quantité de nitrite injectée | Quantité par kgr. d'animal | — Survie ✝ Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | mgr. | mgr. | | |
| 1 | 1420 | 190 | 130 | — | Légère intoxication. |
| 2 | 1280 | 190 | 148 | — | Troubles respiratoires très marqués. Durée : 1 à 1 1/2 heure. |
| 3 | 940 | 140 | 150 | — | Dyspnée, paralysie ; durée : 2 heures. |
| 4 | 1200 | 190 | 160 | — | Id. durée : 2 1/2 heures environ. |
| 5 | 1300 | 210 | 171 | ✝ | Après 50 minutes. |
| 6 | 1600 | 290 | 180 | ✝ | » 50 » |
| 7 | 1370 | 250 | 195 | ✝ | » 25 » |

Nous venons de voir que 150 milligrammes de nitrite par kilogramme déterminent une intoxication très grave, d'une durée de deux heures environ, et que la dose de 170 mgr. amène la mort au bout de cinquante minutes environ. Voyons aussitôt, l'influence que le carbonate et le bicarbonate de sodium, donnés préalablement, exercent sur l'intoxication par diverses doses.

**Carbonate de sodium et nitrite.**

Des déterminations préalables nous ont appris que 50 ctgr. de carbonate de sodium (anhydre) donnés par voie intraveineuse pouvaient être injectés à un lapin d'un poids moyen (1200 à 1500 gr.) sans que des troubles extérieurs se manifestent. Dans les expériences qui suivent, nous avons, autant que possible, donné le carbonate de cette manière (par l'une des veines auriculaires), ce qui nous évitait les symptômes d'agitation

considérable résultant de l'irritation locale que détermine l'injection sous-cutanée, et ce qui nous procurait l'avantage d'une absorption immédiate et complète. Toutefois, nous avons été parfois obligé de donner tout ou une partie du carbonate en injection sous-cutanée. Nous laissions dans ce cas un intervalle de temps considérable entre cette injection et l'administration du nitrite.

(Dose mortelle du nitrite = 170 mgr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de carbonate injectée | Intervalle | Quantité de nitrite par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | ctgr. | min. | mgr. | | |
| 1 | 1190 | 50 (ss-cut.) | 60 | 150 | — | L'animal demeure sensiblement normal. |
| 2 | 1700 | Id. | 60 | 160 | — | Après 60 minutes, il présente pendant quelque temps (15 minutes) un état légèrement anormal. |
| 3 | 1470 | 50 (intrav.) | 20 | 170 | † | Demeure normal pendant 20 à 25 minutes environ.<br>35 minutes, s'affaisse.<br>60 minutes, méthémoglobine très nette.<br>85 minutes, succombe. |
| 4 | 1750 | 10 (intrav.)<br>40 (ss-cut.) | 30 | 180 | † | 15 minutes, animal affaissé.<br>Succombe endéans 45 minutes. |
| 5 | 1275 | 40 (intrav.)<br>10 (ss-cut.) | 23 | 200 | † | Pendant 30 minutes, demeure normal.<br>Brusquement (35 à 40 minutes), l'intoxication apparaît; succombe après 52 minutes. |
| 6 | 1660 | 25 (intrav.)<br>25 (ss-cut.) | 40 | 200 | † | 25 minutes, normal.<br>40 minutes, parésie certaine, intoxication progresse rapidement; succombe après 57 minutes. |

Comme on le voit, après administration préalable de carbonate de sodium, l'animal ne présente aucun symptôme d'intoxication pour une forte dose de nitrite (150 à 160 milligrammes par kilogramme). Ce n'est point à dire cependant qu'il demeure dans un état absolument normal : de la vaso-dilatation se produit, sa respiration est accélérée, il demeure tranquille, reste en place pendant quelque temps, mais ne présente pas de parésie et son sang n'offre pas la teinte foncée due à la méthémoglobine; après un temps variable, tout rentre dans l'ordre. On voit, d'autre part, et contrairement à ce que l'on était en droit d'attendre, qu'il n'est pas possible de dépasser la dose mortelle; toutefois, il existe un retard dans l'apparition des accidents.

**Bicarbonate de sodium et nitrite.**

(Dose mortelle du nitrite = 170 mgr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de bicarbonate injectée | Intervalle | Quantité de nitrite par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | ctgr. | min. | mgr. | | |
| 1 | 1120 | 50 (intrav.) | 5 | 125 | — | A aucun moment ne présente rien d'anormal. |
| 2 | 1150 | Id. | 45 | 150 | — | 30 minutes, attitude normale, absence de spontanéité.<br>60 minutes, même état, pas de méthémoglobine.<br>75 minutes, même état.<br>120 minutes, absolument normal, prend de la nourriture. |
| 3 | 1790 | 50 (intrav.)<br>25 (ss-cut.) | 5 | 170 | — | 45 minutes, absolument normal.<br>60 minutes, état légèrement anormal.<br>110 minutes, absolument normal. |
| 4 | 1650 | 75 (intrav.) | 5 | 180 | † | 30 à 35 minutes, l'animal prend volontiers de la nourriture.<br>50 minutes, respiration manifestement accélérée; sang : teinte brune,<br>60 minutes, parésie.<br>80 minutes, succombe. |
| 5 | 1400 | 50 (ss-cut.) | 10 | 185 | † | 40 minutes, absolument normal.<br>55 minutes, respiration accélérée; méthémoglobine.<br>70 minutes, s'affaisse.<br>95 minutes, succombe. |
| 6 | 1412 | Id. | 8 | 215 | † | 15 minutes, méthémoglobine manifeste.<br>30 minutes, succombe. Donc pas de retard. |

Par conséquent, le bicarbonate de sodium prévient l'intoxication par le nitrite de sodium lors même que celui-ci est administré à dose mortelle (170 milligrammes par kilogramme). Pour des doses supra-mortelles, le bicarbonate, comme le carbonate, détermine un retard dans l'apparition des symptômes. L'examen de nos protocoles, dont les tableaux ci-dessus fournissent une juste idée, permet de l'estimer (pour le carbonate comme pour le bicarbonate), d'une façon générale, à trente minutes environ. Passé ce temps, la respiration s'accélère, les vaisseaux du pavillon de l'oreille se foncent, la paralysie s'établit, bref, l'intoxication s'est installée avec ses caractères ordinaires, et évolue alors avec sa vitesse normale.

Voyons, d'autre part, ce que donne l'injection préalable de sulfate ou de chlorure de sodium.

**Sulfate de sodium et nitrite.**

*Lapin, 1070 grammes.*

Injection intraveineuse de 1 gramme de sulfate de sodium. L'animal demeure normal.

o h. o' Injection sous-cutanée de nitrite, 170 mgr. par kilogramme.
o h. 25' Vaso-dilatation considérable; sang, teinte brune manifeste.
o h. 30-35' Parésie.
o h. 45' Tombe sur le côté; ralentissement et irrégularités respiratoires.
o h. 50' Mort; sang absolument brun.

Aucun retard ne s'est donc produit dans l'intoxication.

**Chlorure de sodium et nitrite.**

*Lapin, 1090 grammes.*

Injection intraveineuse de 1 gramme de chlorure de sodium. L'animal n'a rien présenté d'anormal.

o h. o' Injection sous-cutanée de nitrite, 171 milligrammes par kilogramme.
o h. 15' Vaso-dilatation, respiration accélérée, sang manifestement foncé.
o h. 20' Méthémoglobine nette.
o h. 33' L'animal s'affaisse, respiration très dyspnéique.
o h. 45' Paralysie absolue, respiration ralentie.
o h. 52' Mort.

Par conséquent, pas plus que pour le sulfate de soude, l'injection préalable de chlorure de sodium ne produit un retard dans l'intoxication. Dans les deux cas, les symptômes se sont développés avec la même rapidité, et la mort est survenue dans le même laps de temps que si l'on avait injecté le nitrite seul à la même dose.

## II. — Chlorate de sodium.

Pour éviter l'action toxique spéciale du chlorate de potassium en tant que sel de potassium, nous nous sommes adressé au chlorate de sodium, qui, en outre, possède l'avantage d'une solubilité très grande dans l'eau, condition qui, on le conçoit, simplifie les expériences et les conditions d'absorption.

### Expériences sur la Grenouille et sur le Lapin.

Comme dans nos recherches nous avions en vue la formation de la méthémoglobine, nous n'avons guère fait d'expériences à l'aide du chlorate de sodium chez la grenouille ni chez le lapin, attendu que chez ces deux espèces animales nous avons constaté (fait d'ailleurs signalé, du moins pour le lapin comme pour le cobaye) que le sang des animaux qui ont succombé par le chlorate ne présentait pas la coloration brune spéciale due à la méthémoglobine; même pour une dose trois fois supérieure à la dose simplement mortelle(1), le sang du lapin n'offre pas, au moment de

(1) Après avoir recherché la toxicité du chlorate donné par la voie sous-cutanée,

la mort, la coloration du sang méthémoglobinisé. Mais si, comme nous l'avons fait, on recueille à divers moments de l'intoxication (depuis quinze minutes jusque deux et trois heures) — car cette substance, même à forte dose, agit avec une grande lenteur chez le lapin — des échantillons de sang pris à la carotide, on constate que ceux pris en dernier lieu ne brunissent que seulement plus de vingt-quatre heures après la mort.

Si, d'autre part, on donne à un lapin, même au cours de l'intoxication, du carbonate ou du bicarbonate de sodium, son sang ne présente pas après la mort le changement de coloration qu'offre le premier : le brunissement dû à la formation de méthémoglobine ne se produit pas.

Ainsi se trouve vérifié chez le lapin, *post mortem,* le même fait général que nous cherchons à mettre en évidence par ce mémoire, à savoir, l'action inhibitive exercée par certaines substances sur la formation de la méthémoglobine.

### Expériences sur le Chien.

Tout autrement se comporte le chien vis-à-vis du chlorate de sodium. Chez cet animal, la formation de méthémoglobine se produit nettement, même pour les doses non mortelles, et toujours nous l'avons constatée même encore du vivant de l'animal, quelle que soit la dose (faible ou forte) à laquelle celui-ci succombe. D'après nos recherches, la toxicité de cette substance donnée par la voie sous-cutanée est d'environ 1 gr. par kilogramme, comme le démontre le tableau ci-dessous :

| Numéro | Poids | Quantité de chlorate injectée | Quantité par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | gr. | | |
| 1 | 5700 | 4,00 | 0,75 | — | Absolument normal. |
| 2 | 4600 | 5,75 | 1,25 | † | Demeure normal pendant plus de 4 heures. Puis subitement, cris, la respiration devient pénible, paralysie ; succombe environ 6 heures après l'injection. |
| 3 | 6100 | 8,20 | 1,35 | † | Succombe environ 4 heures après l'injection. |
| 4 | 5800 | 11,20 | 1,93 | † | 45 minutes, vomissements ; puis demeure tranquille, sombre ; respiration normale cependant. 80 minutes, aggravation brusque ; succombe 2 1/2 heures après l'injection. |

et la comparant aux resultats que nous ont fourni des recherches analogues sur le chlorure de sodium, nous répéterons avec Stokvis (qui fit de semblables recherches pour la voie stomacale) que, chez le lapin, « le chlorate de sodium n'est ni plus ni moins toxique que le chlorure, et que si l'on place le premier parmi les poisons, il y faut ranger aussi le second ». Archiv f. exper. Path. und Pharmakol., 1886, vol. XXI, p. 209.)

Les symptômes extérieurement visibles à la suite d'injection de chlorate de sodium sont les suivants : une demi-dose mortelle et même davantage (50 à 75 centigr. par kilogramme) ne provoque guère de modification dans les allures ou dans la manière d'être de l'animal. Pour une dose de 1 à 1,25 gr. (dose mortelle), apparaissent parfois des vomissements; mais le plus souvent, à part un état de souffrance, d'abattement, l'animal pendant longtemps ne présente rien de spécial, et durant plusieurs heures on serait tenté de croire que rien de plus grave ne se produira. Mais après un temps qui varie nécessairement avec la dose, et presque toujours d'une façon assez brusque, l'animal présente un léger état d'excitation, puis il chancelle et il tombe : sa respiration s'accélère et devient pénible, des symptômes asphyxiques se montrent, et l'animal succombe rapidement; le sang présente une coloration brune intense, caractéristique de la méthémoglobine. Pour une dose simplement mortelle (1 à 1,25 gr.), la mort survient au bout de six heures environ; pour une dose deux fois mortelle, la mort survient déjà deux heures et demie après l'injection.

**Acétate de sodium et chlorate.**

A un chien du poids de 4100 gr., nous donnons en injection souscutanée, dans le flanc gauche, 4 gr. d'acétate de soude (anhydre) dissous dans 30 c.c. d'eau.

Quarante-cinq minutes après, injection de 5,1 gr. de chlorate de sodium dissous dans 10 à 15 c.c. d'eau, soit donc 1,25 gr. par kilogramme d'animal, dose qui, dans les conditions ordinaires, détermine la mort endéans six heures environ. Or, à aucun moment, ce chien ne s'est distingué en rien d'un animal normal.

**Bicarbonate de sodium et chlorate.**

Le bicarbonate, comme le carbonate (voir plus loin), furent injectés en solution aussi concentrée que possible, une partie du sel se trouvant même souvent encore en suspension dans l'eau; les endroits d'injection étaient naturellement multipliés. L'injection du chlorate était pratiquée du côté opposé du corps, environ une heure à une heure et demie après l'injection du bicarbonate ou du carbonate. Nos résultats se trouvent consignés dans le tableau suivant :

(Dose mortelle du chlorate = 1 gr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de bicarbonate injectée | Quantité de chlorate par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | gr. | | |
| 1 | 4400 | 4,5 | 1,5 | — | N'a rien présenté d'anormal. |
| 2 | 5700 | 5 | 1,93 | — | 3 heures, abattement, respiration pénible. Lendemain matin : refuse de manger. Vers le soir, amélioration. Troisième jour au matin : absolument normal. |
| 3 | 3400 | 3,5 | 2,2 | — | Demeure dans un état analogue pendant quelques heures seulement. |
| 4 | 6900 | 7 | 2,9 | † | Reste sombre pendant 3 heures ; puis redevient absolument normal ; succombe plus de 10 h. après l'injection. |
| 5 | 3800 | 5 | 4,0 | † | Demeure normal pendant les 9 heures qui suivent l'injection de chlorate. Trouvé mort le lendemain matin ; sang méthémoglobinisé. |

Comme on voit, l'injection préalable de bicarbonate de sodium (1 gr. environ par kilogramme) permet d'administrer une dose franchement mortelle (1,5 gr. par kilogramme) de chlorate de sodium sans que ce dernier provoque de modification dans l'état de l'animal.

Si, pour la même dose de bicarbonate, on administre plus de deux fois la dose mortelle de chlorate, l'animal présente un état maladif passager : il reste couché, refuse sa nourriture; mais en tout cas, après quelques heures, il revient absolument à l'état normal.

Pour une dose trois à quatre fois mortelle de chlorate, l'injection préalable de bicarbonate retarde considérablement l'apparition des accidents (même jusque neuf heures) ; il se produit des alternatives d'amélioration et d'aggravation, mais finalement l'animal succombe.

**Carbonate de sodium et chlorate.**

Il était à prévoir que les résultats obtenus avec le bicarbonate seraient confirmés par le carbonate. Les deux expériences suivantes en sont la preuve :

(Dose mortelle du chlorate = 1 gr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de carbonate injectée | Quantité de chlorate par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | gr. | | |
| 1 | 3300 | 2,5 | 2 | — | L'animal a été souffrant quelques heures. |
| 2 | 5100 | 3,5 | 3 | † | A été souffrant pendant 12 heures, puis est revenu à l'état normal; trouvé mort le lendemain matin ; sang méthémoglobinisé. |

De même que pour le bicarbonate, l'injection préalable de carbonate de soude (1 gr. par kilogramme en injection sous-cutanée) permet donc d'administrer jusque deux fois la dose mortelle de chlorate sans qu'un état d'intoxication manifeste se produise. Pour une dose même trois fois supérieure à la dose mortelle, les accidents se développent avec un retard considérable.

Voyons d'autre part, ce que donne l'injection préalable de sulfate ou de chlorure de sodium.

**Sulfate de sodium et chlorate.**

*Chien, 5300 grammes.*

Injection sous-cutanée de 4,4 gr. de $Na_2SO_4$ (anhydre) en solution dans 25 c.c. d'eau.

o h. o' Une heure après l'injection précédente, injection sous cutanée de 6,6 gr. de chlorate, soit 1,25 gr. par kilogramme.

1 h. 30' Animal normal.

2 h. 30' Id.

3 h. 30' Id.

4 h. 30' L'animal demeure très tranquille, mais circule un peu quand on l'y provoque, puis se recouche ; la respiration est normale.

5 h. o' Même état.

5 h. 45' Id. ?

6 h. 15' Paralysie débutante, respiration accélérée.

6 h. 37' L'animal est trouvé mourant.

6 h. 52' Mort. Le sang est absolument brun.

**Chlorure de sodium et chlorate.**

*Chien, 3500 grammes.*

Injection sous-cutanée de 7 grammes de chlorure de sodium.

o h. o' Injection de 4,4 gr. de chlorate en solution dans 15 c.c. d'eau, soit 1,25 gr. par kilogramme. (Cette dernière injection est pratiquée environ une heure après l'administration du chlorure.)

1 h. o' Animal normal.

2 h. o' Id.

3 h. o' L'animal paraît souffrant, se tient très tranquille.

4 h. 15' Même état.

5 h. 30' Id.

6 h. o' Aggravation. L'animal est couché sur le flanc : la respiration et les pulsations cardiaques sont ralenties.

6 h. 15' Mort. Sang methémoglobinisé.

Par conséquent, ni le sulfate ni le chlorure de sodium ne présentent une action préventive analogue à celle signalée pour le carbonate, le bicarbonate et l'acétate de soude.

## III. — Aniline.

Les solutions employées étaient faites dans l'huile d'olive, liquide avec lequel l'aniline se mélange instantanément en toute proportion et d'une manière parfaite.

### Expériences sur la Grenouille.

Par des recherches faites sur des grenouilles, nous avons constaté que la dose mortelle d'aniline, injectée dans le sac lymphatique dorsal, est légèrement inférieure à 2,0 mgr. par gramme d'animal (plus exactement : 1,90 mgr.). L'administration préalable d'acétate, de formiate, de bicarbonate ou de carbonate de sodium ne nous a pas permis d'élever la dose mortelle ou simplement de retarder l'intoxication.

### Expériences sur le Lapin.

L'injection de 30 centigr. d'aniline (solution dans l'huile à 10 %) par kilogramme d'animal détermine rapidement (sept minutes environ) un état d'agitation de courte durée, en même temps que la respiration s'accélère considérablement. Au bout de vingt à vingt-cinq minutes, un état paralytique existe manifestement, et bientôt l'on constate des frémissements dans divers groupes musculaires, particulièrement dans les muscles de la cuisse et dans ceux de la nuque; ces secousses gagnent en intensité et se généralisent, des convulsions se produisent; la respiration, alors encore, est très fréquente, la température rectale est abaissée, des phénomènes asphyxiques se déclarent. La dose de 30 à 40 centigr. n'étant pas mortelle, un amendement se produit, l'animal revient insensiblement à l'état normal.

Cette intoxication est de très longue durée, même pour des doses notablement inférieures à la dose simplement mortelle : c'est ainsi que pour une dose de 30 centigr. par kilogramme, la durée d'intoxication est de deux heures environ; pour une dose de 40 centigr., cette durée est de plus de huit heures; pour la dose mortelle de 55 centigr., la durée d'intoxication est de dix heures environ.

Donnons ici quelques protocoles qui permettront de juger de la symptomatologie présentée au cours de cette intoxication.

Expérience I. — *Lapin, 2500 grammes.*

o h. 0' Injection sous-cutanée de 1.10 gr. d'aniline, soit 0,45 gr. par kilogramme.

o h. 17' Respiration, 180 à 200 par minute; animal à peu près couché sur le ventre.

o h. 55' Parésie; l'animal peut cependant encore se déplacer.

2 h. 15′ Parésie augmente; frémissements continus dans les membres postérieurs.
3 h. 0′ Même état.
4 h. 0′ Pas de changement. Le lendemain matin, l'animal paraît normal.

### EXPÉRIENCE II. — *Lapin, 2120 grammes.*

0 h. 0′ Injection sous-cutanée de 1,30 gr. d'aniline, soit 0,55 gr. par kilogramme.
0 h. 30′ Après période de parésie, l'animal présente des convulsions intenses et continues.
1 h. 15′ Même état; respiration, 200 environ par minute; température rectale, 35,5°.
2 h. 15′ Même état; salivation très abondante; urines à réaction très nette de paramido-phénol.
4 h. 15′ Même état; température rectale, 30°.
5 h. 30′ Id. id.
7 h. 30′ Id. id.
8 h. 45′ Les convulsions ont à peu près disparu; paralysie; respiration très irrégulière et inégale.
10 h. 30′ Mort. Urines à très forte réaction de paramido-phénol.

### EXPÉRIENCE III. — *Lapin, 1720 grammes.*

0 h. 0′ Injection sous-cutanée de 1 gramme d'aniline, soit 0,60 gr. par kilogramme; légère agitation consécutive et accélération respiratoire.
0 h. 25′ Paralysie, quelques secousses dans les muscles; absence de réaction de paramido-phénol dans les urines.
0 h. 40′ Paralysie absolue; respiration, 50 environ par minute; température rectale, 37°.
1 h. 0′ Même état; température rectale, 34°.
2 h. 0′ État convulsif violent.
4 h. 0′ État convulsif violent; température rectale, 24°; urines à très forte réaction de paramido-phénol.
7 h. 30′ État convulsif permanent; réflexe cornéen presque nul.
8 h 0′ Respiration très irrégulière; température rectale, 22°.
9 h. 20′ Mort.

*Toxicité de l'aniline en injection sous-cutanée chez le lapin.*

| Numéro | Poids | Quantité injectée | Quantité par kgr. d'animal | — Survie ✝ Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | ctgr. | | |
| 1 | 1970 | 0,58 | 29 | — | Paralysie. |
| 2 | 774 | 0,20 | 30 | — | Id. convulsions; durée : 2 heures. |
| 3 | 2500 | 1,10 | 45 | — | Id. id. pendant plus de 4 heures. |
| 4 | 2120 | 1,30 | 55 | ✝ | Mort après 10 1/2 heures. |
| 5 | 1720 | 1,00 | 60 | ✝ | Id. 9 heures environ. |
| 6 | 1650 | 1,15 | 70 | ✝ | Id. 10 1/2 heures environ. |

Par conséquent, la dose mortelle de l'aniline en injection sous-cutanée est d'environ 55 centigr. par kilogramme d'animal.

**Acétate de sodium et aniline.**

Des déterminations préalables nous ont montré qu'à un lapin du poids de 1300 à 1500 gr., on pouvait administrer par la voie intraveineuse 1,25 gr. d'acétate de sodium anhydre sans déterminer quelque trouble extérieur.

(Dose mortelle de l'aniline = 55 centigr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité d'acétate injectée | Intervalle | Quantité d'aniline par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | min. | ctgr. | | |
| 1 | 2270 | 0,16 (intrav.) | 10 | 35,2 | — | 10 minutes, agitation; respiration accélérée; légère incertitude de mouvements; pas de parésie.<br>60 minutes, état absolument normal. |
| 2 | 1374 | 0,27 (intrav.) | Id. | 40 | — | 10—15 minutes, agitation; respiration accélérée. Injection intraveineuse de 27 centigr. d'acétate.<br>30 minutes, même état; pas de parésie, mais aucun déplacement spontané.<br>60 minutes, id.<br>90 minutes, absolument normal, circule parfaitement. |
| 3 | 1260 | 1 (intrav.) | Id. | 60 | — | 3 minutes, respiration fort accélérée.<br>17 minutes, parésie s'accentuant insensiblement.<br>60 minutes, parésie.<br>2 heures, circule parfaitement. |
| 4 | 1160 | Id. | 5 | 70 | — | Animal tranquille; respiration ralentie; il circule quand on l'y provoque.<br>2 h. 30 min., parésie.<br>3 h. 15 min., paralysie; température rectale, 37,5°.<br>3 h. 30 min., se relève et circule un peu. Le retour complet à l'état normal se fait insensiblement. |
| 5 | 1748 | Id. | 10 | 74 | — | 1 h. 45 min. après l'injection, trouvé en paralysie complète; respiration, 50 par minute.<br>2 h. 45 min., même état; température rectale, 34,5°.<br>5 heures, même état; pas de convulsions; température rectale, 32,5°.<br>7 heures, amélioration? température rectale, 35,5°.<br>Lendemain matin : absolument normal. |
| 6 | 1769 | Id. | 12 | 79,6 | † | 5 minutes, agitation considérable; respiration très accélérée; l'animal s'affaisse.<br>1 h. 40 min., trouvé paralysé; respiration, 45—50 par minute.<br>2 h. 40 min., paralysie, pas de convulsions; température rectale 36°.<br>3 heures, température rectale, 34°.<br>3 h. 30 min., se remet sur ses pattes.<br>4 h. 45 min., demeure en place; impossibilité de circuler; température rectale, 35,5°.<br>6 heures, nouvelle aggravation de la paralysie et de l'état général.<br>7 heures, état stationnaire.<br>Lendemain matin, trouvé mort. |
| 7 | 1330 | 2 (s$^{s}$-cut.) | 50 | 80 | — | Injecté le soir, avant de quitter le laboratoire.<br>Le lendemain matin (8 heures), l'animal circule et présente toutes les apparences d'un animal normal. |

**Acétate de sodium et aniline** (suite).

| Numéro | Poids | Quantité d'acétate injectée | Intervalle | Quantité d'aniline par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | min. | ctgr. | | |
| 8 | 1330 | 2 (ss-cut.) | 50 | 85 | † | Rapidement intoxication très grave. Trouvé mort le lendemain matin. |
| 9 | 1200 | 1 (intrav.) | 5 | 96 | † | 5 minutes, respiration accélérée. 10 minutes, parésie. 60 minutes, parésie; se déplace quand on l'y pousse. 5 heures, aggravation de la paralysie; température rectale, 35°. 6 heures, mort. |
| 10 | 1370 | 3 (ss-cut.) | 2 h. | 1 | † | 25 minutes, l'animal paraît normal; puis rapidement paralysie et convulsions pendant 10—15 minutes. 2 heures, sur pattes, absence de frémissements dans les muscles; température rectale, 36,5°. 3 heures, aggravation, état paralytique; la température rectale baisse insensiblement. Meurt 8—9 heures après l'injection d'aniline. |

De l'examen du tableau précédent se dégagent les faits suivants :

1° L'injection préalable d'acétate de sodium, à dose suffisante (1 gr. $C_2H_3NaO_2$ pour un lapin de 1500 gr. environ), permet d'élever la dose mortelle de l'aniline donnée en injection hypodermique de 55 à 80 centigr., donc de plus de 45 %;

2° Une dose d'aniline de 35 centigr. par kilogramme, qui, donnée seule, provoque une intoxication grave, ne détermine, si l'on administre préalablement de l'acétate de soude, qu'une intoxication légère et de courte durée (n° 1 du précédent tableau);

3° Des doses d'aniline de 60, 70 et 80 centigr., qui, données seules, provoquent rapidement des convulsions intenses et la mort, déterminent, après injection préalable d'acétate de soude, des phénomènes d'intoxication de gravité moindre, qui, après un temps variable suivant la dose (voir le tableau ci-dessus), se dissipent, en sorte que l'animal revient insensiblement à l'état normal;

4° Pour des doses de 85 à 90 centigr. par kilogramme, l'intoxication paraît se dérouler avec sa vitesse ordinaire et ses caractères habituels.

**Formiate de sodium et aniline.**

En présence des résultats qu'avait fourni l'acétate de soude, nous avons recherché ce que produirait le formiate. Ce sel n'est guère toxique : nous avons pu donner en injection intraveineuse jusque 1 gr. de formiate de sodium à un lapin de 1400 gr. sans que l'animal présentât quelque phénomène anormal.

(Dose mortelle de l'aniline = 55 centigr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de formiate injectée | Intervalle | Quantité d'aniline par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | | ctgr. | | |
| 1 | 1150 | 0,50 (intrav.) | 1 h. | 55 | — | 25 minutes, parésie.<br>60 minutes, circule.<br>1 heure 30 minutes, absolument normal |
| 2 | 1450 | 1 (intrav.) | 10 m. | 60 | — | 5 minutes, parésie.<br>10 minutes, secousses dans divers muscles.<br>30 minutes, convulsions.<br>2 heures et demie, amélioration.<br>3 heures, les convulsions ont disparu ; la paralysie persiste.<br>Lendemain matin, état normal. |
| 3 | 1430 | Id. | 1 h. | 65 | † | A présenté des convulsions peu de temps après l'injection de l'aniline. Etat stationnaire pendant toute la journée ; la température rectale a baissé insensiblement. A succombé pendant la nuit. |
| 4 | 1480 | Id. | 15 m. | 70 | — | 20 minutes, convulsions.<br>4 heures, toujours même état.<br>Lendemain matin, état normal. |
| 5 | 990 | Id. | Id. | 75 | † | Meurt moins de 6 heures après l'injection d'aniline, donc dans le délai ordinaire. |

Ainsi donc, l'administration préalable de formiate de soude permet d'élever de plus de 27 % la dose mortelle de l'aniline.

**Bicarbonate de sodium et aniline.**

(Dose mortelle de l'aniline = 55 centigr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de bicarbonate injectée | Intervalle | Quantité d'aniline par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | min. | ctgr. | | |
| 1 | 1500 | 0,75 (intrav.) | 45 | 70 | — | 30 minutes, paralysie, tremblement convulsif.<br>1 h. 50 min., paralysie nettement diminuée.<br>3 h. 30 min., animal sensiblement normal. |
| 2 | 1800 | Id. | Id. | 55 | — | 5 minutes, agitation, respiration accélérée.<br>8 minutes, parésie.<br>60 minutes, même état.<br>2 heures, absolument normal. |
| 3 | 1300 | 0,62 (intrav.) 0,12 (sous-cut.) | 12 | 80 | — | 20 minutes, parésie.<br>2 1/2 heures, même état.<br>Le lendemain matin, trouvé absolument normal. |
| 4 | 970 | 1 (sous-cut.) | 60 | 80 | † | Injecté le soir.<br>Lendemain matin, trouvé mort. |
| 5 | 970 | Id. | Id. | 90 | † | Id. id. |

Par conséquent, l'administration préalable de bicarbonate de soude permet d'élever, comme pour l'acétate, de plus de 45 °/₀ la dose mortelle de l'aniline.

**Carbonate de sodium et aniline.**

(Dose mortelle de l'aniline = 55 centigr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de carbonate injectée | Intervalle | Quantité d'aniline par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | min. | ctgr. | | |
| 1 | 2170 | 1 (intrav.) 0,25 (sous-cut.) | 40 | 64 | — | 10 minutes, paralysie. 60 minutes, amélioration ; peut se déplacer quelque peu. 3 heures, *statu quo* ; reste parésié. Lendemain matin, état normal. |
| 2 | 1320 | 0,50 (anh.) (intrav.) | 10 | 60 | † | (Ce lapin a servi à diverses reprises.) Trouvé mort le lendemain matin. |
| 3 | 1410 | 1 (crist.) (intrav.) | 30 | 70 | — | Après 1 heure, pas de parésie. Lendemain matin, état absolument normal. |
| 4 | 1200 | Id. | 5 | 75 | — | 30 minutes, sur pattes, mais chancelant encore. Respiration accélérée. Lendemain matin, état absolument normal. |
| 5 | 1318 | Id. | 10 | 85 | † | Mort. |

Ainsi que nous l'avons déjà vu pour l'acétate et pour le bicarbonate de soude, l'injection préalable de carbonate de sodium permet donc d'élever de 45 °/₀ la dose mortelle de l'aniline.

Voyons, d'autre part, ce que produit l'injection préalable d'autres sels : le sulfate, l'hyposulfite et le chlorure de sodium.

**Sulfate de sodium et aniline.**

(Dose mortelle de l'aniline = 55 centigr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de sulfate injectée | Intervalle | Quantité d'aniline par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | min. | ctgr. | | |
| 1 | 900 | 1,50 (anh.) (intrav.) | 18 | 60 | † | 15 minutes, parésie. 15 minutes, convulsions, auxquelles succède un état paralytique permanent. Mort 9 heures après l'injection d'aniline. |
| 2 | 620 | 1 (anh.) (intrav.) | 40 | 70 | † | 10 minutes, paralysie. 15 minutes, convulsions. Mort environ 6 heures après l'inject. d'aniline. |

**Hyposulfite de sodium et aniline.**

(Dose mortelle de l'aniline = 55 centigr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité d'hyposulfite injectée | Intervalle | Quantité d'aniline par kgr. d'animal | — Survie ✝ Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | ctgr. | min. | ctgr. | | |
| 1 | 730 | 75 (intrav.) | 15 | 60 | ✝ | Mort 3 heures après l'injection d'aniline. |
| 2 | 740 | Id. | 5 | 70 | ✝ | Mort 6 heures après l'injection d'aniline. |

**Chlorure de sodium et aniline.**

(Dose mortelle de l'aniline = 55 centigr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de chlorure injectée | Intervalle | Quantité d'aniline par kgr. d'animal | — Survie ✝ Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | min. | ctgr. | | |
| 1 | 940 | 1 (intrav.) | 15 | 60 | ✝ | Mort après 3 heures environ. |
| 2 | 1350 | Id. | 20 | 65 | ✝ | Mort après 5 heures environ. |

Remarquons, en passant, que le chlorure de sodium semble exercer plutôt une action accélératrice sur l'évolution de l'intoxication.

Ainsi donc, nous ne rencontrons ni pour le sulfate, ni pour l'hyposulfite, ni pour le chlorure de sodium, les propriétés préventives spéciales vis-à-vis de l'aniline que nous avons constatées pour l'acétate, le formiate, le bicarbonate et le carbonate de sodium.

## IV. — Acétanilide.

L'usage thérapeutique des antithermiques et le reproche qu'on leur adresse souvent de donner lieu à la formation de méthémoglobine nous ont engagé à étudier l'action de divers sels alcalins dans l'intoxication par ces médicaments, parmi lesquels nous avons choisi l'acétanilide ou antifébrine. Toutefois, un léger inconvénient pour cette étude résultait du peu de solubilité de cette substance dans l'eau à la température ordinaire ; aussi, étions-nous obligé de peser pour chaque animal en particulier la quantité voulue, de la dissoudre dans de l'eau tiède et de l'injecter rapidement à l'aide d'une seringue à très large canule, sous un volume parfois relativement considérable (30 à 40 c.c.), bien entendu, en espaçant les endroits d'injection.

### EXPÉRIENCES SUR LE LAPIN.

Les premiers symptômes d'intoxication apparaissent cinq à dix minutes après l'injection, et, à part une très courte période d'accélération respiratoire, qui souvent fait défaut, ils revêtent presque d'emblée le caractère général qu'ils conservent jusqu'à la fin, à savoir : ralentissement respiratoire et paralysie. Une vaso-dilatation auriculaire intense existe également pendant la première moitié de l'intoxication, suivie de vaso-constriction. La température rectale, de son côté, subit une chute considérable et rapide.

Que l'intoxication soit mortelle ou non, dans tous les cas elle est de très longue durée; elle est, en moyenne, d'au moins 6 heures pour une dose simplement mortelle.

*Toxicité de l'acétanilide donnée en injection hypodermique au lapin.*

| Numéro | Poids | Quantité d'acétanilide injectée | Quantité par kgr. d'animal | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | ctgr. | ctgr. | | |
| 1 | 1470 | 60 | 40 | — | Intoxication pendant 5 heures environ. |
| 2 | 1200 | 50 | 40 | — | Intoxication pendant 7 heures. |
| 3 | 1900 | 95 | 50 | — | Intoxication pendant 4 heures. |
| 4 | 1450 | 80 | 55 | — | Id. |
| 5 | 1410 | 85 | 60 | + | 4 heures environ après l'injection. |
| 6 | 1820 | 113 | 62 | + | 6 1/2 heures environ après l'injection. |
| 7 | 1950 | 127 | 65 | + | 8 heures environ après l'injection. |

Nous pouvons donc considérer la dose de 60 centigr. par kilogramme, donnée en injection sous-cutanée, comme mortelle chez le lapin.

**Bicarbonate de sodium et acétanilide.**

Voyons aussitôt dans quelle limite l'administration du bicarbonate de soude permet d'élever la dose mortelle de l'acétanilide.

(Dose mortelle de l'acétanilide = 60 centigr. par kilogramme.)

| Numéro | Poids | Quantité de bicarbonate injectée | Quantité d'acétanilide par kgr. d'animal | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | ctgr. | | |
| 1 | 1565 | 1 (intrav.) | 65 | — | 10 minutes, animal affaissé.<br>30 minutes, paralysie.<br>1 1/2 heure, même état.<br>2 1/2 heures, se relève spontanément.<br>3 1/2 heures, à peu près normal. |

**Bicarbonate de sodium et acétanilide** (suite).

| Numéro | Poids | Quantité de bicarbonate injectée | Quantité d'acétanilide par kgr. d'animal | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | ctgr. | | |
| 2 | 1550 | 1 (intrav.) | 80 | — | 5 minutes, parésie; insensiblement la paralysie s'établit.<br>1 heure, même état; température rectale, 37,3°.<br>3 heures, id. id. 37,9°.<br>Lendemain matin, absolument normal. |
| 3 | 1100 | Id. | 85 | — | Injecté le soir.<br>Lendemain matin, normal. |
| 4 | 1000 | Id. | 100 | † | 10 minutes, parésie, puis paralysie.<br>3 heures, parésie, température rectale, 37°.<br>5 heures, parésie, température rectale, 36° ; fait des efforts pour se relever.<br>6 heures, sur pattes; température rectale, 38,3°.<br>7 1/2 heures, circule, apparences normales.<br>Lendemain matin, parésie. Injection de bicarbonate; succombe 1 1/2 heure après. |
| 5 | 1290 | Id. | 120 | † | Mort 5 heures après l'injection; donc dans le délai normal. |

Donc l'injection préalable de bicarbonate de sodium permet d'élever de 38 °/₀ environ la dose mortelle de l'acétanilide.

**Carbonate de sodium et acétanilide.**

| Numéro | Poids | Quantité de carbonate injectée | Quantité d'acétanilide par kgr. d'animal | — Survie + Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | ctgr. | | |
| 1 | 1190 | 1 (intrav.) | 90 | — | 5 minutes, parésie.<br>10 minutes, paralysie.<br>3 1/2 heures, amélioration.<br>5 heures, état sensiblement normal. |
| 2 | 1180 | Id. | 100 | — | 10 minutes, parésie marquée.<br>1 heure, paralysie absolue; température rectale, 39°.<br>2 heures, même état; température rectale, 39°.<br>4 heures, id. id<br>6 heures environ, animal se relève à demi.<br>8 heures, sur pattes. |

Par conséquent, l'injection préalable de carbonate de sodium permet de donner au lapin, en injection sous-cutanée, au moins 50 °/₀ d'acétanilide en plus de la dose mortelle sans que la mort s'ensuive.

**Acétanilide, sulfate et chlorure de sodium.**

| Numéro | Poids | Sulfate et chlorure de sodium | Quantité d'acétanilide par kgr. d'animal | — Survie † Mort | OBSERVATIONS |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | ctgr. | | |
| 1 | 1950 | 1 $Na_2SO_4$ intrav. | 75 | † | Succombe après 6 à 7 heures. |
| 2 | 1430 | 1 NaCl intrav. | 75 | † | Id. |

Par conséquent, le sulfate et le chlorure de sodium sont dépourvus de la propriété antitoxique signalée pour le bicarbonate et pour le carbonate.

Nous n'avons étudié jusqu'ici que l'action préventive de certaines substances vis-à-vis du nitrite et du chlorate de sodium, vis-à-vis de l'aniline et de l'acétanilide. Existe-t-il également une action curative?

Disons auparavant que nous entendons par action curative celle qu'un contre-poison est capable d'exercer, l'intoxication étant pleinement développée, alors donc que le poison est non seulement absorbé, mais qu'il a déjà agi sur les éléments de l'organisme pour lesquels il présente de l'affinité et que dès lors il développe ses effets.

Nos expériences nous permettent d'affirmer, qu'ainsi envisagée, il n'existe pas d'action curative. Les exemples suivants en fournissent la démonstration.

I. NITRITE DE SODIUM. — *Lapin, 1100 grammes.*

o h. o' Injection sous-cutanée 190 mgr., soit donc 172 mgr. par kilogramme.

o h. 8' Vaso-dilatation manifeste, accélération respiratoire notable.

o h. 10' Injection intraveineuse 20 ctgr. $Na_2CO_3$ (anhydre).

o h. 20' L'intoxication progresse très rapidement.

o h. 22' Injection intraveineuse 20 ctgr. $Na_2CO_3$. Pas d'amélioration, sang absolument brun. L'animal succombe trente-huit minutes après l'injection du nitrite.

II. CHLORATE DE SODIUM. — *Chien, 6100 grammes.*

o h. o' Injection sous-cutanée 8,2 gr., soit 1,35 gr. par kilogramme.

4 h. o' Animal sur le flanc, respiration très ralentie, 50 pulsations cardiaques par minute. Injection intraveineuse (saphène) 5 à 6 c.c. de solution $Na_2CO_3$ à 10 %.

Dix minutes après : respiration rétablie et régulière, 20 par minute. Le réflexe cornéen reparaît.

Vingt minutes : action cardiaque et respiration faiblissent. Injection intraveineuse 5 c.c. même solution. L'animal succombe une dizaine de minutes après.

### III. Aniline. — *Lapin, 1270 grammes.*

o h. o' Injection sous-cutanée 77 ctgr. d'aniline, soit 60 ctgr. par kilogramme.
o h. 15' Convulsions.
o h. 20' Injection intraveineuse 1 gr. d'acétate de soude. Aucune amélioration ne se produit. L'animal succombe dans le délai normal.

### IV. Acétanilide. — *Lapin, 1550 grammes.*

o h. o' Injection sous-cutanée 1,25 gr. d'acétanilide (en solution dans environ 30 c.c. d'eau), soit 80 ctgr. par kilogramme.
1 h. o' Paralysie; respiration, 40 à 50 par minute; température rectale, 37,9°.
2 h. o' Animal toujours couché sur le côté; température rectale, 36,5°. Injection intraveineuse, 1 gr. de bicarbonate de soude.
3 h. o' Toujours même état; température rectale, 36,3°.
3 h. 30' Même état. Lendemain matin, trouvé mort.

Il n'existe donc aucune action curative au sens du mot tel que nous l'avons défini plus haut. Est-ce à dire cependant que toute intervention serait sans utilité après pénétration du poison dans le courant circulatoire, mais avant sa fixation et avant l'apparition des phénomènes toxiques? — Non, et nous n'en voulons pour preuve que les faits suivants.

On a vu qu'un laps de temps notable s'écoule entre le moment d'administration du chlorate par la voie sous-cutanée et le moment d'apparition des accidents. Nous avons donc administré (par la voie sous-cutanée) une dose de chlorate (1,9 gr. par kilogramme, dose presque deux fois mortelle) qui détermine la mort endéans deux heures et demie environ ; nous avons donné ensuite du bicarbonate de soude à des intervalles de temps variables et graduellement croissants depuis cinq minutes jusque une heure après l'administration du chlorate.

| Numéro | Poids du chien | Quantité de chlorate par kgr. | Intervalle | Quantité de bicarbonate | Succombe après : |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | min. | gr. | |
| 1 | 5300 | 1,93 | 60 | 10, sous-cut. | 2 1/2 h. (Donc dans le délai normal.) |
| 2 | 4000 | 1,90 | 20 | 8, id. | 5 h. (Retard de la mort : 2 1/2 heures.) |
| 3 | 4800 | 1,90 | 5, début<br>15, fin | 3, intrav.<br>6, sous-cut. | 6 h. (Retard de la mort : 3 1/2 heures.) |

Par conséquent, dans ces conditions, l'apparition des accidents est retardée, et elle l'est d'autant plus que le moment d'administration du bicarbonate est plus rapproché de celui du chlorate.

Un résultat analogue a été fourni avec l'aniline : nous avons vu plus haut que si l'on administre de l'acétate de soude au moment où les

convulsions existent déjà, l'on ne peut espérer sauver l'animal. Si, au contraire, comme dans l'expérience suivante, on injecte de l'acétate alors qu'il n'existe encore que de légers accidents, on peut empêcher l'intoxication de progresser, mais l'on ne fait pas disparaître l'intoxication existante. C'est donc une action antitoxique simplement inhibitive ou préventive et nullement curative.

*Lapin, 1120 grammes.*

Injection de 65 centigr. d'aniline, soit 60 ctgr. par kilogramme.

o h. 7' Agitation, respiration très accélérée.
o h. 10' Parésie établie, animal encore sur pattes.
o h. 20' Injection intraveineuse de 40 ctgr. d'acétate de soude.
o h. 30' Parésie progresse.
o h. 55' Pas d'amélioration, pas d'aggravation; toujours même attitude.
2 h. o' Même état; injection intraveineuse de 20 ctgr. d'acétate.
2 h. 30' Toujours même état; lendemain matin, état normal.

Le fait étant donc acquis que l'administration de bicarbonate de soude, même après absorption du poison, peut exercer encore quelque influence sur l'évolution de l'intoxication en retardant le moment d'apparition de la mort (p. 333), nous avons vérifié si après *ingestion* de chlorate à dose mortelle il y avait moyen d'intervenir utilement à l'aide du bicarbonate. Les deux protocoles suivants mis en regard l'un de l'autre répondent à la question.

*Chien, 4200 grammes.*

A jeûn (dernier repas : vingt-quatre heures avant l'expérience).

o h. o' Administration par la sonde stomacale de 10,5 gr. de chlorate de sodium (en solution dans 25 c.c. d'eau + 25 c.c. de lait), soit 2,5 gr. par kilogramme (1).

*Chien, 5300 grammes.*

(Comme ci-contre.)

o h. o' Administration identique de 13,25 gr. de chlorate (en solution dans 25 c.c. d'au + 25 c.c. de lait), soit aussi 2,5 gr. par kilogramme (1).

o h. 15' Injection hypodermique (2) de 9 gr. de bicarbonate de soude, en solution dans 55 c.c. d'eau.

(1) Divers essais nous ont montré que cette dose de chlorate donnée de cette manière est franchement mortelle; l'exemple cité le montre d'ailleurs, et cela malgré des vomissements, tardifs il est vrai. Notre chiffre (2,5 gr. par kilogramme) diffère sensiblement de celui de MARCHAND (1,25 gr. par kilogramme); mais il est à remarquer que cet auteur donnait le chlorate en nature mélangé à de la viande. (Arch. f. exper. Path. u. Pharm., 1886, vol. XXIII, pp. 286 et suivantes.)

(2) La voie gastrique eût été préférable pour le but proposé; mais les tentatives

*Chien, 4200 grammes (suite).*

1 h. 45′ Vomissements. A partir de ce moment paraît souffrant.

2 h. 45′ Titube, tombe. Aggravation rapide.

3 h. 65′ Mort. Sang méthémoglobinisé.

*Chien, 5300 grammes (suite).*

0 h. 30′ Efforts de vomissements ; rien n'est expulsé. (Nous avions pris la précaution de fixer l'animal sur une planche, celle-ci placée verticalement.)

0 h. 50′ L'animal est délié. Il paraît souffrant, se tient couché.

1 h. 30′ Se tient tranquille, couché. Respiration, 20 par minute. Cœur, 100 environ.

2 h. 0′ Amélioration, état sensiblement normal.

2 h. 30′ État absolument normal.

Il est inutile, pensons-nous, d'insister sur l'importance pratique qui se dégage de cette dernière expérience, comme aussi de celles qui précèdent. Le nombre des substances qui, chez l'homme, donnent lieu à la formation de méthémoglobine est considérable, et parmi celles qui sont le plus souvent cause d'accidents (d'origine thérapeutique, industrielle, erreurs, suicides, etc.), nous citerons, outre les substances étudiées : le chlorate de potassium, l'antipyrine et d'autres antipyrétiques et analgésiques, le nitrobenzol, etc. Dans tous les cas d'intoxication par l'une ou l'autre de ces substances, il se trouvera donc indiqué d'administrer aussitôt que possible du bicarbonate, du carbonate ou de l'acétate de soude. Il est bien évident que cette médication n'exclut nullement l'emploi d'autres moyens (vomitifs, etc.), que les circonstances de l'empoisonnement et les symptômes présentés indiqueront comme pouvant offrir quelque utilité ; car, il ne faut pas l'oublier, la formation de méthémoglobine ne constitue qu'un des symptômes de l'intoxication par ces substances, ainsi que le prouvent d'ailleurs les différences dans les résultats obtenus pour les diverses substances sur lesquelles notre étude a porté.

---

auxquelles nous nous sommes livré ne nous auraient pas permis de conclure, vu que l'administration de bicarbonate provoquait des vomissements, condition à éliminer.

## CHAPITRE II.

Si telle est donc l'action antitoxique de certains sels vis-à-vis des substances méthémoglobinisantes, cherchons à préciser le mécanisme de cette influence.

Le nitrite de sodium, le chlorate, l'aniline, l'acétanilide donnent lieu d'une façon générale à la formation de méthémoglobine; mais chacune de ces substances possède, en outre, une action toxique sur d'autres tissus : il suffit, en effet, de rappeler que la dose mortelle moléculaire ou absolue, et, plus encore, la symptomatologie, diffèrent pour chacun de ces composés. Nous savons également que le chlorate, l'aniline, l'acétanilide ne provoquent pas de méthémoglobine chez le lapin, alors que ces mêmes substances en déterminent chez le chien (1) : la formation de la méthémoglobine peut donc ne pas contribuer à l'empoisonnement, et, d'autre part, elle n'est pas la seule cause de la mort.

Afin de trancher entre ces deux alternatives, action antiméthémoglobinisante et action antitoxique générale, nous avons étudié spécialement *in vitro*, la formation de la méthémoglobine en présence des sels alcalins précités.

Voici en deux mots le principe de nos expériences : la méthémoglobinisation d'une certaine quantité de sang pouvant être déterminée par une quantité connue de nitrite de sodium, nous avons recherché si l'addition de certains sels alcalins exerçait quelque influence sur cette transformation.

A cet effet, des expériences furent instituées de la manière suivante.

Du sang fraîchement recueilli et défibriné est dilué dans le liquide physiologique de manière à obtenir une solution à 1,5 %, dilution qui, après divers essais, nous a paru la plus convenable pour les recherches que nous nous proposions. Une quantité fixe (10 c.c.) était versée dans une série de tubes; un échantillon pris comme « type sang pur », ainsi qu'un autre où la transformation en méthémoglobine était parfaite servant de points de comparaison, il était facile de suivre à l'œil nu ou à l'aide du spectroscope les modifications de coloration qui pouvaient se présenter.

Nos recherches *in vitro* ont porté sur le sang du lapin et sur celui de la grenouille.

---

(1) L'homme, sous ce rapport, se comporte comme le chien et le chat (carnivores). La grenouille et le cobaye se comportent comme le lapin (herbivore).

*a)* Expériences avec le sang de Lapin.

Nous recherchions d'abord quelle quantité de nitrite de sodium était nécessaire pour déterminer en un temps donné la disparition de la coloration rose de la solution, celle-ci faisant place à la couleur brune due à la méthémoglobine. Ce rapport de quantité et de temps que nous prenions comme base d'estimation, offre quelques variations d'un animal à l'autre; il faut noter encore que la transformation en méthémoglobine est obtenue plus rapidement avec la même quantité de nitrite lorsque la solution de sang est faite depuis quelque temps (dix à douze heures) que lorsqu'elle est fraîche, ce qui se comprend facilement. Aussi, des déterminations préliminaires à l'aide de diverses quantités de nitrite de sodium sont-elles indispensables, non seulement au début de chaque série d'expériences, de manière à bien obtenir le « type méthémoglobine » en un temps donné qu'on prend comme base (nous avons adopté généralement le temps de deux minutes), mais encore au cours même des recherches si l'on a lieu de penser que des modifications se sont produites dans la solution.

Toutefois, nous appuyant sur de nombreux essais, nous estimons qu'endéans les six heures qui suivent l'extraction du sang et sa dilution avec la solution physiologique, il ne se fait pas d'altération capable de modifier sensiblement les résultats obtenus au début de l'expérience.

Après avoir ainsi déterminé la quantité de nitrite servant de mesure, nous ajoutions dans une série de tubes une quantité fixe de l'un des sels dont nous voulions étudier l'action ainsi que des quantités variables de nitrite de sodium. Comme nous l'avons dit, jugeant par comparaison avec les deux tubes témoins, l'on pouvait suivre les moindres modifications de coloration qui se produisaient (1).

Nous avons étudié dans ces conditions l'influence des substances suivantes : soude caustique, carbonate de sodium, bicarbonate de sodium, acétate de sodium, formiate de sodium, sulfate de sodium, nitrate de sodium, chlorure de sodium.

**Soude caustique.**

La soude par elle même, à partir d'une certaine concentration, donnant lieu à la formation de méthémoglobine, il était indispensable de

(1) Il est préférable de faire ce travail à la lumière du jour (pas au soleil) et d'examiner les tubes en les plaçant au-devant d'une feuille de papier blanc; toutefois, avec un peu d'habitude, mais toujours jugeant par comparaison, il est aisé de faire également ce travail le soir, à la lumière d'un bec Auer, surtout en se plaçant à quelque distance (1 à 2 mètres) des tubes.

rechercher d'abord quelle quantité maximale l'on pouvait ajouter à une quantité donnée de sang (10 c.c. à 1,5 %), sans déterminer des modifications de la solution, du moins endéans un laps de temps convenable pour les observations projetées. Le tableau suivant fournit le résultat de cette recherche préliminaire.

*Soude décinormale (1 centimètre cube = 4 milligrammes* NaOH).

(Sang de lapin, dilution 1,5 %; 10 c.c. dans chaque tube.)

| | | | 3 h. 9′ | 3 h. 25′ | 3 h. 35′ | 5 heures | 6 heures | 8 heures |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1/10 c.c. soude N/10 | à 2 h. 58′ | | | | | Pas de modification | Pas de modification |
| 2 | 2/10 id. | à 2 h. 59′ | | | | Pas de modification | Bruni | |
| 3 | 3/10 id. | à 3 h. 0′ | | Pas de modification | Pas de modification | | Bruni | |
| 4 | 4/10 id. | à 3 h. 1′ | Pas de modification | | | | Bruni | |
| 5 | 5/10 id. | à 3 h. 1′ 30″ | | | | Bruni | | |
| 6 | 1 c.c. id. | à 3 h. 2′ | | Légère modification ? | Ont bruni | | | |
| 7 | 2 id. | à 3 h. 3′ | | | | | | |
| 8 | 5 id | à 3 h. 3′ 30″ | A nettement bruni | | | | | |

On le voit, seul le tube qui contenait un dixième de c.c. de soude décinormale n'a pas encore présenté de modification cinq heures après qu'on y eût introduit la soude; dans les autres, la formation de méthémoglobine s'est faite plus ou moins rapidement suivant la quantité de soude ajoutée.

Comme pendant plus de cinq heures le tube n° 1 ne présentait pas de modification (c'est à peine s'il y en avait une le lendemain matin, c'est-à-dire après dix-huit heures), nous avons pris cette quantité comme base pour l'expérience rapportée au tableau suivant : dans toute une série de tubes contenant 10 c.c. cubes de sang (dilution à 1,5 %) additionnés d'un dixième de c.c. de NaOH décinormale, ajoutons des quantités croissantes de nitrite de sodium variant de 5 à 300 mgr. et voyons ce que devient la formation de méthémoglobine dans ces conditions.

Des essais préalables nous avaient appris que, pour la même quantité de ce même sang non additionnée de soude, 5 mgr. de nitrite déterminaient en moins d'une minute un brunissement certain, et qu'après une minute et demie à deux minutes la coloration brune était nette; 2,5 mgr. de nitrite opéraient cette transformation en une heure environ.

**Soude et nitrite de sodium.**

| | | | | 3 h. 46′ | 3 h. 48′ | 3 h. 52′ | 4 h. 0′ | 4 h. 7′ | 6 h. 0′ | 8 h. 0′ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1/10 c.c. NaOH N/10 ; 5 mgr. nitrite. . . | à 3 h. 7′ | | Sont identiques au tube témoin « sang pur » (1 à 6) | | | Pas de modification (1 à 3) | Pas de modific. (1 et 2) | Pas de modific. | Pas de modific. |
| 2 | 1/10 c.c. NaOH N/10 ; 10 mgr. nitrite . . | à 3 h. 8′ | | | | | | | Légèrem' bruni | |
| 3 | 1/10 c.c. NaOH N/10 ; 12,5 mgr. nitrite. . | à 3 h. 36′ | | | | | | Légère modific. | Bruni | |
| 4 | 1/10 c.c. NaOH N/10 ; 25 mgr. nitrite . . | à 3 h. 37′ | | | | | Modification? | Bruni | | |
| 5 | 1/10 c.c. NaOH N/10 ; 50 mgr. nitrite . . | à 3 h. 39′ | | | | | Bruni légèrement | | | |
| 6 | 1/10 c.c. NaOH N/10 ; 100 mgr. nitrite . . | à 3 h. 40′ | | | | Modification? | Bruni | | | |
| 7 | 1/10 c.c. NaOH N/10 ; 200 mgr. nitrite . . | à 3 h. 42′ | | A manifestement bruni | Brunissement complet | | | | | |
| 8 | 1/10 c.c. NaOH N/10 ; 300 mgr. nitrite . . | à 3 h. 45′ | Instantanément léger brunissem' | | | | | | | |

Comme il est facile d'en juger par ce tableau, l'addition d'une minime quantité de soude (0,4 mgr. NaOH) retarde considérablement la formation de la méthémoglobine, lors même qu'on ajoute des quantités considérables de nitrite.

C'est ainsi que la transformation immédiate ne vint à se produire que pour 300 mgr. de nitrite; pour 200 mgr. elle n'apparut qu'après quatre minutes (donc plus tard déjà que dans un tube non additionné de soude, ne contenant uniquement que 5 mgr. de nitrite); pour 100 mgr. elle ne se montra qu'après douze minutes; le tube qui contenait 50 mgr. de nitrite ne se modifia qu'après vingt minutes environ; celui qui renfermait 12,5 mgr. de nitrite ne commença à brunir qu'après une demi-heure environ; enfin, celui qui renfermait 5 mgr. de nitrite ne s'était pas modifié après cinq heures d'observation : il était alors encore absolument identique à un échantillon de la même solution de sang, additionné de soude (0,1 c.c.) ou non.

Répétons à l'aide de carbonate de sodium ce que nous avons fait avec la soude. Le tableau suivant fournit le résultat de l'une de ces expériences (1) :

(1) L'expérience suivante, de même que celles que nous avons faites avec le bicarbonate, l'acétate, le formiate, le sulfate, le nitrate et le chlorure de sodium, ont été conduites d'une façon parallèle et à l'aide de la même solution de sang.

**Carbonate et nitrite de sodium.**

| | | | 5 heures | 5 h. 30′ | 6 h. 30′ | 8 heures. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1/10 c.c. $Na_2CO_3$ N/10<br>2,5 mgr. de nitrite de sodium. | De 3 h. à 3 h. 2′ | Pas de modification | Pas de modification | Pas de modification | Identique au tube témoin « sang pur » |
| 2 | 1/10 c.c. $Na_2CO_3$ N/10<br>5 mgr. nitrite de sodium. | | Id. | Id. | A bruni | |
| 3 | 1/10 c.c. $Na_2CO_3$ N/10<br>7,5 mgr. de nitrite de sodium. | | Id. | Id. | Id. | |
| 4 | 1/10 c.c. $Na_2CO_3$ N/10<br>10 mgr. de nitrite de sodium. | | Modification ? | Brunissement certain | | |
| 5 | 1/10 c.c. $Na_2CO_3$ N/10<br>12,5 mgr. de nitrite de sodium. | | Id. | Id. | | |
| 6 | 1/10 c.c. $Na_2CO_3$ N/10<br>15 mgr. de nitrite de sodium. | | A bruni | | | |

Le carbonate de sodium détermine donc aussi, comme la soude, un retard dans la formation de la méthémoglobine. Des expériences analogues, faites à l'aide du bicarbonate, de l'acétate, du formiate de soude, ont fourni, à part des différences d'activité d'après ces substances, des résultats analogues : existant au maximum pour la soude, elle est moindre pour le carbonate, moindre encore pour le bicarbonate, l'acétate et le formiate.

Nous avons constaté, en outre, qu'en augmentant la quantité de sel alcalin (carbonate, bicarbonate, etc.), on pouvait élever d'autre part aussi la quantité de nitrite, sans que de la méthémoglobine vint à se former. C'est ainsi qu'en ajoutant 20 centigr. de carbonate de sodium à la même quantité de sang, nous avons pu mettre jusque un gramme de nitrite en nature sans que la coloration rose de la solution fût modifiée : la teinte brune de la méthémoglobine ne se montra qu'une heure après que le nitrite eût été introduit dans la solution, alors que 2,5 mgr. de nitrite déterminaient en une minute et demie la formation de méthémoglobine dans la même quantité du même sang comme tel (solution 1,5 %).

*Chlorure, sulfate, nitrate de sodium.*

Même échantillon de sang que celui employé pour le carbonate de sodium (tableau ci-dessus).

10 c.c. de sang, dilution à 1,5 %; 2,5 mgr. de nitrite déterminent en une minute et demie à deux minutes la transformation nette en méthémoglobine.

**NaCl.** Addition de 1 c.c. de NaCl décinormal, donc dix fois plus moléculairement que de NaOH ou de $Na_2CO_3$.

2,5 mgr. de nitrite : aucun retard dans la formation de méthé-

moglobine. Cette expérience répétée avec des quantités plus considérables de chlorure fournit toujours le même résultat.

**$Na_2SO_4$.** Addition de 1 c.c. de $Na_2SO_4$ décinormal.

2,5 mgr. de nitrite : aucun retard dans la transformation en méthémoglobine. Des quantités plus considérables de sulfate (même jusque 200 mgr.) ne modifient pas le résultat.

**$NaNO_3$.** Même résultat que pour le chlorure et le sulfate.

*b)* EXPÉRIENCES AVEC LE SANG DE GRENOUILLE.

Du sang obtenu par incision des vaisseaux de la base du cœur, puis défibriné (opération de très longue durée : trois quarts d'heure à une heure), était dilué avec la solution physiologique; la concentration était identique à celle choisie pour le sang de lapin (1,5 %).

Comme la quantité de sang obtenue est faible, nous avons, dans les expériences qui suivent, opéré sur 5 c.c. de sang au lieu de 10, comme chez le lapin. Ainsi que nous l'avons fait pour le sang de ce dernier animal, nous avons recherché d'abord quelle quantité de nitrite de sodium était nécessaire pour obtenir une transformation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine endéans un laps de temps propre à servir de base aux observations projetées.

Ces expériences nous ont montré que pour obtenir cette transformation il fallait :

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Pour 10 mgr. | de nitrite | un laps de temps | de | 1 minute. |
| 5 id. | id. | id. | | 4 minutes. |

Or, ainsi que nous venons de le dire, nous travaillions sur 5 c.c. de solution de sang, au lieu de 10 comme chez le lapin. Si l'on se souvient, d'autre part, que pour 10 c.c. de sang (1,5 %) de ce dernier animal, 5 mgr. (souvent 2,5 mgr. suffisaient; expériences p. 340) de nitrite déterminent l'apparition de la méthémoglobine en deux minutes environ, on voit que la résistance du sang de la grenouille à cette transformation est nettement supérieure à celle du sang du lapin (dans l'exemple ci-dessus, elle l'est de deux à trois fois, proportions gardées au volume de sang). Les divers essais auxquels nous nous sommes livré ont clairement mis ce fait en évidence. Ce dernier subit cependant des variations assez étendues d'un lot d'animaux à un autre, ce qui semble surtout en rapport avec l'état nutritif des grenouilles. Cette résistance, nous l'avons trouvée dans une série d'expériences faites avec du sang provenant de très fortes grenouilles (50 grammes) fraîchement capturées, jusque vingt fois supérieure à celle constatée chez certains lapins. Mais, en général, elle est au moins deux

à trois fois celle trouvée pour le sang de cette dernière espèce animale.

De même aussi que nous l'avons fait pour le sang du lapin, voyons quelle quantité de soude décinormale on peut ajouter de manière à ne pas former de méthémoglobine, du moins endéans un laps de temps suffisant pour les observations projetées.

**Soude décinormale.**

(Sang de grenouille, dilution 1,5 °/o; 5 c.c. dans chaque tube.)

| | | | 10 h. 41' | 10 h. 48' | 11 h. 15' | 12 heures | 1 heure | 2 heures |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1/10 c.c. NaOH N/10 | à 10 h. 28' | | | Aucune modification | Pas de modification | Pas de modification | Pas de modification |
| 2 | 2/10 id. | à 10 h. 29' | Pas de modification | | Id. | Id. | Id. | Id. |
| 3 | 3/10 id. | à 10 h 30' | | | Id. | Id. | Bruni | |
| 4 | 5/10 id. | à 10 h. 31' | | Légère modification | | | | |
| 5 | 1 c.c. id. | à 10 h. 36' | Transformation certaine | | | | | |

Ce tableau, comparé à l'analogue dressé pour le sang du lapin, montre, lui aussi, que le sang de la grenouille offre également une plus grande résistance à l'action méthémoglobinisante de la soude.

Voyons aussitôt l'influence inhibitive de la soude sur la formation de la méthémoglobine par le nitrite de sodium.

**Soude caustique et nitrite.**

(Même sang que pour l'expérience ci-dessus; 5 c.c. dans chaque tube.)

| | | | 10 h. 55' | 11 h. 10' | 1 heure | 2 heures | 3 heures | 4 h. 30' | 6 heures | 7 heures |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1/10 c.c NaOH N/10<br>5 mgr. nitrite. . . | à 10 h. 44' | Pas de modificat° | Pas de modificat° | Pas de modificat° | Pas de modification | Pas de modificat° | Pas de modific. | Pas de modificat° | Légère modificat° |
| 2 | 1/10 c.c. NaOH N/10<br>10 mgr. nitrite . . | à 10 h. 45' | Id. | Id. | Id. | Id. | Id. | Id. | Id. | Id |
| 3 | 1/10 c.c. NaOH N/10<br>15 mgr. nitrite . . | à 10 h. 46' | Id. | Id. | Id. | Id. | Id. | Brun? | Bruni | |
| 4 | 1/10 c.c. NaOH N/10<br>20 mgr. nitrite . . | à 10 h. 47' | Id. | Id. | Id. | Id. | Id. | Id. | Id. | |
| 5 | 1/10 c.c. NaOH N/10<br>25 mgr. nitrite . . | à 10 h. 48' | Id. | Id, | Id. | Modification? | Bruni | | | |
| 6 | 1/10 c.c. NaOH N/10<br>30 mgr. nitrite . . | à 10 h. 56' | Id. | Id. | Brunissement? | Brunissement certain | | | | |

On voit par ce tableau qu'alors que 5 mgr. de nitrite de sodium déterminaient endéans quatre minutes l'apparition de la méthémoglobine

dans 5 c.c. de sang dilué à 1,5 °/₀, cette même quantité, dans un tube contenant un dixième de c.c. de NaOH décinormale, ne produisit aucune modification, même après plus de sept heures; après huit heures, un léger changement s'était peut-être manifesté, ainsi que dans le tube renfermant 10 mgr. de nitrite, quantité qui, seule, déterminait une transformation très rapide (une minute) de l'hémoglobine.

Dans le tableau qui suit se trouvent exposés les résultats d'expériences analogues faites avec du carbonate de sodium. L'échantillon de sang utilisé pour cette expérience provenait de très fortes grenouilles et offrait, comparativement au précédent, une résistance beaucoup plus considérable à la transformation en méthémoglobine : tandis que pour l'échantillon précédent provenant de grenouilles petites (12 à 15 gr.) et moyennes (20 à 30 gr.), 10 mgr. de nitrite déterminaient de la méthémoglobine en une minute, la même quantité de nitrite n'opérait cette transformation dans l'échantillon suivant qu'après une demi-heure environ. Aussi, avons-nous, pour l'expérience suivante, pris comme base de travail 50 mgr. de nitrite, quantité qui déterminait la méthémoglobinisation endéans deux minutes.

**Carbonate et nitrite de sodium.**

| | | 11 h. 18′ | 11 h. 25′ | 11 h. 30′ | 11 h. 40′ | 11 h. 55′ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 { 1 c.c. solution $Na_2CO_3$ / 50 mgr. nitrite . . . | à 11 h. 7′ | Pas de modification | Pas de modification | Pas de modification | Pas de modification | Paraît brunir |
| 2 { 1 c.c. solution $Na_2CO_3$ / 100 mgr. nitrite . . . | à 11 h. 10′ | Id. | Id. | Id | Id. | Id. |
| 3 { 1 c.c. solution $Na_2CO_3$ / 150 mgr. nitrite . . . | à 11 h. 12′ | Id. | ? | | Teinte brune | |
| 4 { 1 c.c. solution $Na_2CO_3$ / 160 mgr. nitrite . . . | à 11 h. 25′ | | | Pas de modification | A bruni manifestement | |
| 5 { 1 c.c. solution $Na_2CO_3$ / 180 mgr. nitrite . . . | à 11 h. 28′ | | | Id. | Id. | |
| 6 { 1 c.c. solution $Na_2CO_3$ / 200 mgr. nitrite . . . | à 11 h. 21′ | Après 1 m. teinte brune apparaît | Teinte brune certaine | | | |

L'addition préalable de carbonate de sodium détermine donc, elle aussi, un retard dans la formation de la méthémoglobine. Des résultats analogues furent également constatés pour le bicarbonate et l'acétate de sodium; pour ce dernier cependant, à un degré moindre que pour le bicarbonate et le carbonate.

Voyons d'autre part ce que produit la présence du chlorure, du sulfate ou du nitrate de sodium.

(Même sang que pour les expériences avec le carbonate, v. ci-dessus.)

**NaCl.** 1 c.c. de solution décinormale (dix fois plus moléculairement que de soude) 50 mgr. de nitrite : après une minute, la différence d'avec un tube témoin « sang pur » est certaine ; après deux minutes, la coloration brune est nette.

**$Na_2SO_4$.** Même résultat.

**$NaNO_3$.** Même résultat.

Par conséquent, l'addition préalable de chlorure, de sulfate ou de nitrate de sodium n'a retardé en rien la transformation de la coloration rose de la solution ; la coloration brune s'est manifestée tout aussi rapidement que dans le sang non préalablement additionné de l'un ou de l'autre de ces sels.

Ajoutons enfin que des essais avec les sels correspondants du potassium ont fourni des résultats identiques, aussi bien pour le sang de lapin que pour celui de la grenouille.

Une même conclusion générale leur est donc également applicable.

Une différence très nette existe entre les deux groupes des sels alcalins étudiés : les uns qui exercent un retard sur la formation de la méthémoglobine, les autres qui sont sans influence sur cette transformation. Et si nous examinons quel lien commun existe entre les sels qui exercent cette action inhibitive, nous voyons aussitôt que seuls en sont doués les sels alcalins qui jouissent de la propriété basique, ceux qui sont à réaction alcaline, les sels neutres de réaction étant indifférents aussi sous ce rapport.

Si nous nous reportons aux diverses séries d'expériences exposées dans le premier chapitre, si nous comparons les résultats obtenus *in vivo* avec ceux que nous venons d'indiquer, obtenus *in vitro*, on voit que la concordance est absolue : seuls aussi exercent une action antitoxique les sels qui sont à réaction alcaline; ceux, par contre, qui ne possèdent pas la propriété basique, sont également privés de cette action antitoxique. Par conséquent, l'action antiméthémoglobinisante est due à la propriété basique de ces composés, et cette action antiméthémoglobinisante contribue au moins à l'action antitoxique.

Et, pour rendre la démonstration plus nette encore, injectons de la soude caustique à un lapin, et voyons ce que devient l'intoxication pour une dose de 160 mgr. de nitrite de sodium, quantité qui, donnée seule, provoque des symptômes de haute gravité (voir p. 314). La soude, par elle-même, donnant lieu à la formation de méthémoglobine, d'autre part, son action locale étant très vive, nous nous sommes assuré que l'injection de petites doses répétées ne provoquait, en dehors de quelque agitation et d'une accélération respiratoire, aucun trouble sérieux.

*Lapin, 1230 grammes.*

| | | | |
|---|---|---|---|
| o h. o' | Injection sous-cutanée de 4 c.c. de soude décinormale dans le flanc gauche. | | |
| o h. 15' | Id. | id. | id. |
| o h. 30' | Id. | id. | id. |
| o h. 50' | Id. | id. | id. |
| o h. 65' | Id. | id. | id. |
| o h. 80' | Id. | id. | Total 24 c.c. = 96 mgr. de NaOH. |

o h. o' Injection au flanc droit de 190 mgr. de nitrite de sodium, soit 160 mgr. par kilogr.
o h. 10' Agitation ; vaso-dilatation intense.
o h. 20' Même état ; respiration accélérée ; pas de parésie, mais l'animal ne se meut pas spontanément, fait quelques pas lorsqu'on le pousse ; le sang n'est pas méthémoglobinisé.
o h. 35' État sensiblement normal.
o h. 50' Absolument normal.

Ainsi donc, tandis que 160 mgr. de nitrite de sodium donnés seuls déterminent des accidents graves avec formation de méthémoglobine, l'injection préalable de soude caustique empêche, au même titre que le carbonate de soude (voir p. 316), l'évolution ordinaire de l'intoxication et la formation de méthémoglobine. Ajoutons que, de même que l'injection de bicarbonate ou de carbonate de sodium ne permet pas d'élever la dose mortelle de nitrite, on constate le même fait pour la soude.

Mais l'action antitoxique des composés alcalins se borne-t-elle à une action antiméthémoglobinisante ?

Nous avons vu, en effet, que l'aniline et l'acétanilide qui déterminent de la méthémoglobine chez le chien, n'en provoquent pas chez le lapin, du moins *in vivo,* et cependant, les composés à réaction alcaline possèdent vis-à-vis de ces substances une action antitoxique certaine. Ce n'est donc pas une action antiméthémoglobinisante qu'ils exercent dans ce cas.

Puisque ces substances empoisonnent autrement encore que par une formation de méthémoglobine, et que les composés basiques sont également actifs dans ce cas, il faut nécessairement admettre qu'ils empêchent non-seulement la formation de méthémoglobine, mais également le processus de l'intoxication en général. Ainsi seulement peut s'expliquer l'action efficace des alcalins dans l'intoxication par l'aniline et par l'acétanilide chez le lapin.

Comment faut-il se représenter cette action antitoxique et cette action antiméthémoglobinisante ?

Les hypothèses peuvent ici se donner libre cours.

On peut s'imaginer qu'une augmentation de l'alcalinité empêche jusqu'à un certain point la pénétration de la substance méthémoglobinisante à l'intérieur des globules rouges et des cellules en général; que dans un milieu alcalin, les globules et les cellules des tissus sont plus stables et résistent davantage à l'action altérante des substances méthémoglobinisantes; que le nitrite, le chlorate, l'aniline, l'acétanilide se décomposent plus difficilement dans un milieu alcalin et qu'ainsi ils ne peuvent aussi facilement développer leur action toxique méthémoglobinisante et autre; enfin, il n'est pas défendu non plus de supposer que l'alcalinité neutralise jusqu'à un certain point le poison méthémoglobinisant et le transforme en une substance inoffensive. Ainsi, en admettant avec BINZ (1) que ces poisons agissent en dégageant de l'ozone dans les cellules à réaction acide de l'organisme, on conçoit qu'une diminution de cette réaction acide décompose l'ozone en oxygène inactif et empêche ainsi l'action toxique de se développer.

Résumons, en terminant, les faits que nous avons cherché à établir dans le présent mémoire :

1° *a)* La dose mortelle du nitrite de sodium chez la grenouille étant de 0,53 à 0,55 mgr. par gramme d'animal, l'injection préalable de carbonate, de bicarbonate, d'acétate de soude permet d'élever cette dose mortelle dans une mesure sensiblement la même (de 0,55 mgr. portée à 0,65 mgr.) pour le carbonate et le bicarbonate, moindre pour l'acétate.

*b)* Pour des doses de nitrite plus élevées encore (0,70 à 0,80 mgr. par gramme), ces mêmes sels alcalins déterminent un retard (dix-huit à vingt-quatre heures) dans l'évolution de l'intoxication et dans l'apparition de la mort. L'activité de l'acétate se montre, sous ce rapport aussi, moindre que celle du carbonate et du bicarbonate.

*c)* Ni le sulfate, ni le chlorure de sodium ne possèdent, vis-à-vis du nitrite de sodium, une action analogue à celle signalée pour le carbonate, le bicarbonate et l'acétate de soude.

2° *a)* Etant donné que le nitrite de sodium provoque chez le lapin des accidents très graves à la dose de 160 mgr. par kilogramme, on constate que l'injection préalable de carbonate et de bicarbonate de soude prévient toute intoxication pour ces doses.

*b)* Si l'on administre une dose mortelle de nitrite (170 mgr. par kilo-

---

(1) BINZ : *Ueber einige neue Wirkungen des Natriumsnitrits.* Archiv f. exp. Path. u. Pharmakol., Bd. 13, pp. 137—138.

gramme), l'injection préalable de carbonate ou de bicarbonate de soude détermine un retard d'environ trente minutes sur l'apparition des accidents; passé ce temps, l'intoxication évolue avec ses caractères propres, sa durée et sa terminaison normales.

*c)* Cette propriété ne se retrouve ni pour le sulfate ni pour le chlorure de sodium.

3° L'administration de bicarbonate de sodium à un lapin intoxiqué par du chlorate de sodium prévient la transformation *post mortem* de l'hémoglobine en méthémoglobine.

4° *a)* Le bicarbonate ainsi que le carbonate de sodium exercent une action préventive sur l'intoxication par le chlorate de sodium chez le chien, jusqu'à concurrence de deux fois, au moins, la dose mortelle.

L'injection préalable d'acétate de soude prévient également toute intoxication pour une dose mortelle (1,25 gr. par kilogramme) de chlorate.

*b)* Ni le sulfate ni le chlorure de sodium ne possèdent des propriétés analogues à celles constatées pour le bicarbonate, le carbonate et l'acétate de sodium.

5° La dose mortelle de l'aniline chez la grenouille étant de 2 mgr. environ (1,9 mgr.) par gramme, l'administration préalable d'acétate, de formiate, de bicarbonate ou de carbonate de sodium n'exerce aucune influence sur la dose mortelle, ou même simplement sur la rapidité de l'intoxication.

6° *a)* L'administration préalable d'acétate de soude au lapin permet d'élever de 46 °/₀ la dose mortelle de l'aniline chez cet animal. Le bicarbonate, le carbonate et le formiate de sodium exercent une action analogue à celle de l'acétate; mais tandis que les deux premiers paraissent aussi actifs que celui-ci, le formiate l'est moins.

*b)* Ici aussi, le sulfate, l'hyposulfite ainsi que le chlorure de sodium ne possèdent pas l'action signalée pour les autres sels.

7° *a)* L'injection préalable de bicarbonate ou de carbonate de sodium permet d'élever d'environ 50 °/₀ la dose mortelle de l'acétanilide (antifébrine) chez le lapin.

*b)* De même que pour les autres substances toxiques étudiées, le sulfate, l'hyposulfite et le chlorure de sodium ne possèdent pas ces propriétés.

8° Les mêmes substances qui exercent une action préventive vis-à-vis du nitrite de sodium, vis-à-vis du chlorate, de l'aniline et de l'acétanilide, ne possèdent aucune action antitoxique curative proprement dite. Toutefois, à raison de leur action inhibitive, même après administration du

poison, elles paraissent pouvoir être utiles dans le traitement des empoisonnements par ces substances.

9° *a)* L'action de ces sels alcalins vis-à-vis des poisons étudiés est une action antitoxique générale en même temps qu'antiméthémoglobinisante.

*b)* Cette action antitoxique se trouve liée à la propriété basique des sels minéraux en question. En effet, les sels potassiques correspondants, ainsi que l'alcali comme tel, possèdent la même action antiméthémoglobinisante et antitoxique *in vitro* et *in vivo*.

*Gand, 1898.*

# Acokanthera Schimperi : its Natural History, Chemistry, and Pharmacology

BY

Thomas R. FRASER, M. D., LL. D., F. R. S. (L & E)., F. R. C. P. E.,
Professor of Materia Medica in the University of Edinburgh.

and

Joseph TILLIE, M. D., F. R. S. E.,
Late Lecturer in Experimental Pharmacology in the University of Edinburgh.

## Introduction.

In a Preliminary Notice on the WaNyika Arrow-Poison of East Equatorial Africa (Proceedings of the Royal Society, 23 March 1893), we stated that, although the chemical and pharmacological examination of this poison and of the wood from which it is derived had been made by us, it appeared advisable to defer communicating a full description of our results, until the botanical identification of the plant could be assured, for the flowers of the plant, necessary for this identification, had not then been obtained.

As we have at length (January, 1895) succeeded in obtaining the flowers of the plant, and have been able from their examination, as well as from that of the fruit, leaves and wood, to identify the plant as *Acokanthera Schimperi* Benth. and Hook., we purpose now to describe the botanical and chemical characters and pharmacological action.

This description is preceded by an account of the arrow-poison employed by tribes inhabiting districts of Central and Tropical East Africa.

## *A)* NATURAL HISTORY.

### 1. Use of poisoned arrows in Central and Tropical East Africa.

The writings of African Explorers contain many references to the use of poisoned arrows in Central and Tropical East Africa, in a region

extending from about lat. 10° S., to lat. 11° N., and from about long. 26° E., to the eastern seaboard.

In German East Africa, at the south of this region, poisoned arrows are used by the Wazaramo and Wak'hutu, who inhabit the maritime region extending from about opposite Zanzibar to opposite Mafia Island; by the Western Wasagara, who inhabit the mountainous regions of Usagara (1), inland, to the west of Zanzibar; by the Wadoë (2 *a*), near the coast at Saadani; by the Wandorobbo (3 *a*), to the south-west of Mount Kilimanjaro (South Masailand); by the Wanyamwesi (2 *b*) (3 *b*), in an extensive region lying to the east of Lake Tanganyika; and by the Wasinja (3 *c*), Waschaschi (3 *d*), Watatur u (3 *e*) and Wassukuma (2 *c*) at the southern extremity of Lake Victoria Nyanza.

In the Congo Free State poisoned arrows are used, on the western side of Lake Tanganyika, by the people of Uruwwa (1), by some of the Manyuema tribes (4 *a*) and by the Waguhha (5 *a*); to the west of Lake Albert Edward Nyanza by the people of Ulegga (5 *b*); and, to the west of Lake Albert Nyanza, by the Akka (4 *b*) (2 *d*).

In the Protectorate of British East Africa and in the Territory of the Imperial British East Africa Company poisoned arrows are used, in the coast-regions stretching from the northern boundary of German East Africa to the southern boundary of the Italian Protectorate of Somaliland, by the WaDigo (5 *a*), opposite Pemba Island; by the WaDuruma (6), WaGiriyama (Giriama) (6) and WaNyika (1) between Mombasa and Malindi (Melinde); by the Wa-boni, Wa-sania or Watai (6, 7 *a*) at the rivers Tana (Dana) and Juba; by the WaTeita (7 *b*), between Mount Kilimanjaro and the East Coast at Mombasa; by the WaKamba (8 *a*, 10 *c*), between Mount Kilimanjaro and Mount Kenia; by the Wakikuyu (9 *a*, 10 *a*), immediately to the south of the Lykipia (Leikipia) plateau and Mount Kenia; by the Wandorobbo (10 *b*), between the Lykipia plateau and the north extremity of Lake Victoria Nyanza (North Masailand); by the Wassongora (2 *e*), at the north extremity of Lake Albert Edward Nyanza; by the A-lur (2 *f*), at the north-west side of Lake Albert Nyanza; by the Bari (11), to the north of Lake Albert Nyanza, near Gondokoro on the Bahr-el-Jebel; and, to the west of the Bari Country, by the Bongo (12).

In the Italian Protectorate of Somaliland, the Shebeyli natives (Adone), on the river Webbe to the south of Ogaden, use poisoned spears in hunting crocodiles and other animals; and they also possess poisoned arrows (13 *a*).

In the mountainous coast-region of North Somaliland, extending

from the French colony of Obok at Tajura Bay to near Cape Guardafui, and in the interior of Somaliland certain hireling tribes (Midgans) have long been known to use poisoned arrows (13 *b*, 13 *c*, 15 *a*, 16, 17 *a*).

**Sources of the arrow-poison.**

In all the regions before referred to, there is distinct evidence that the arrow-poison is prepared from a wood.

In 1852, Mr. JAMES VAUGHAN, M. R. C. S., Civil and Port Surgeon at Aden, communicated to the Pharmaceutical Society of Great Britain some notes upon a tree, named in the vernacular *Wabei*, which was described as growing to a height of twenty feet, and was found in North Somaliland on the Habber-Gerhajjis range of the Gooleis mountains. An arrow-poison was obtained from the tree « by boiling the root in water until the decoction attain the consistency of an inspissated juice ». Mr. VAUGHAN sent to this country specimens of the leaves, twigs and root; and Mr. KIPPIST referred the specimens to the natural order Apocynaceæ, while Mr. HANBURY found that the leaves and stem had a close resemblance to *Acokanthera Schimperi (Carissa Schimperi* A. D C.) of Abyssinia (14).

About this time, also, some experiments of a general character were made in India with this arrow-poison by Dr. ARNOTT and Mr. R. HAINES, M. B., the former arriving at the conclusion that the substance was « a very powerful narcotic irritant poison » without « local effect » (15 *b*), and the latter, that it produced symptoms which « more resemble those produced by nux vomica than by any other agent » (15 *c*).

In 1856, BURTON, in his « First Footsteps in East Africa », gave a general description of the reputed poison-tree, « the celebrated *Wábá*, which produces the Somali *Wäbáyo*, a poison applied to darts and arrows ». The tree is described as « a round stiff evergreen, not unlike a bay, seldom » taller than twenty feet, affecting hillsides and torrent banks, growing in » clumps that look black by the side of the acacias; thornless, with a » laurel-coloured leaf, which cattle will not touch unless forced by famine, » pretty bunches of pinkish-white flowers, and edible berries, black and » ripening to red. The bark is thin, the wood yellow, compact, exceedingly » tough and hard, the root somewhat like liquorice; the latter is prepared » by trituration and other processes, and the produce is a poison in » substance and colour resembling pitch » (15 *d*).

In 1873, HILDEBRANDT visited the north coast of Somaliland (16) and he collected in the Ver-Singelli region on the Ahl mountains, at an altitude of 1000—1200 metres (3280—3937 ft.), specimens, without

flowers, of the reputed poison-tree. He describes the tree as growing to the height of 5 metres (16,4 ft.), and possessing white odoriferous flowers, and a fruit which is stated to be eaten by the Somalis. He also mentions that the name of the poison-tree is *Wabá*, and that the poison is named *Wäbájo*, evidently the same name as BURTON's *Wäbáyo*. Like the specimens obtained by VAUGHAN in 1852, these specimens were referred to a tree belonging to the genus *Acokanthera*, and very closely related to *Acokanthera Schimperi* (20), but the species was not identified.

In 1881, RÉVOIL explored the same coast-region of Somaliland, and penetrated into the interior of the country. He collected on the « Ouarsanguélis and Medjeurtines » mountains a considerable quantity of the roots of a tree which was not identified, but which was said to have leaves resembling those of *Syringa (Philadelphus coronarius* Lin.) (17 *b*). An arrow-poison was prepared by the natives from the fresh or dried roots by prolonged boiling in water, a quantity of the juice of *Aloe socotrina* Lmk. being finally added to the concentrated extract (17 *c*). RÉVOIL states that the arrow-poison is named *Ouabaïo* (17 *b*), which is evidently only another rendering of BURTON's *Wäbáyo* and HILDEBRANDT's *Wabajo*. The root obtained by RÉVOIL was examined chemically by MM. ROCHEBRUNE and ARNAUD, and its active principle was found to be a glucoside, which was named by them « *Ouabaïne* »; but, although subjected to a number of processes both simple and complex, this glucoside could not be obtained in a crystalline form (17 *d*). *Ouabaïne* was believed by MM. ROCHEBRUNE and ARNAUD to act, through the nervous system, as a cardiac poison, but to have no action upon the muscular system (« son action sur le système musculaire est nulle et de nul effet ») (17 *e*). Subsequently, RÉVOIL again obtained the leaves and wood of a tree which also was said to be the source of the *Ouabaïo* arrow-poison. From this supply of wood ARNAUD separated a crystalline glucoside, which received the same name, « *Ouabaïne*, » as the non-crystalline glucoside previously obtained (18 *a*). GLEY found that the crystalline *Ouabaïne* acted upon some of the medullary centres, and finally caused arrest of the heart (21 *a*). These later botanical specimens were referred by MM. FRANCHET and POISSON, first to the genus *Carissa* (18 *a*) and afterwards to the genus *Acokanthera* (19 *a*). The leaves were found to resemble those of *Acokanthera Schimperi*, but it was thought that the tree was a different species because the flowers, which apparently were not obtained, were reported to be « petites cimes serrées, au sommet d'un pédoncule commun long de $0^m.02$ à $0^m.03$ » (18 *a*). SCHWEINFURTH also is of opinion, from the examination of the venation

of the leaf, that this provisionally named *Acokanthera ouabaïo* is probably a different species from *Acokanthera Schimperi* (20 *b*).

No material sufficient for the identification as a species of *Acokanthera ouabaïo* has yet been obtained. The uncertainty of the identification of species from the wood alone has led to the collection and preservation in museums of the non-poisonous wood of *Carissa* species for the poisonous wood of *Acokanthera* species (20 *a*).

In 1885, JAMES penetrated far into the interior of Somaliland. Specimens of a plant, without flowers, collected by him at Darror, and said to be the source of an arrow-poison, have been identified by OLIVER as *Adenium somalense* Balf. fil. (23).

In the British Protectorate, between long. 36° and 38° E., and lat. 0° and 2° S., about 1000 miles south-east from the coast of North Somaliland, evidence has been obtained that the tree which is stated to be that from which the arrow-poison of the region is prepared, also belongs to the genus *Acokanthera*.

In 1884, THOMSON (9 *b*) collected on the Lykipia Plateau, at an altitude of 1829—2438 m., (6—8000 feet), flowerless specimens of a tree, named in the vernacular « *murju* », from which the hunting tribe, Wa-Kamba, prepared an arrow-poison. From an examination of these specimens, which were mixed with specimens of Carissa, OLIVER (24) has expressed the opinion that the tree belongs to the genus *Acokanthera.* and is probably *A. Schimperi* (Carissa Schimperi A. D C.).

In 1887, Count TELEKI and Lieutenant VON HÖHNEL collected at Ngongo Bagás (10 *d*), on the border of South Kikuyuland, at an altitude of 1905 m. (6250 ft), specimens, including the flowers, of a tree named in the vernacular *morio* or *morijo* (evidently the same name as THOMSON's *murju),* from the roots of which the Wakikuyu and Wandorobbo tribes prepared an arrow-poison. VON HÖHNEL describes the poison-trees as « squat, bulky, with bare stems only some 1,5—2,4 m. (5—8 ft) high, » surmounted by a massive cone-shaped crown of leaves, standing out as » if carved in wood against the yellow steppe. They tolerate no other tree » or plant near them, but congregate in little groups; the variety we saw » here were all about the same height, and though the trunks looked as if » they were single, they really consisted of several thin stems twisted » together like those of a vine. The leaves and flowers are both small; the » latter are white or of a pink colour, resembling those of the elder, and they » give forth a delightful aromatic scent » (10 *c*). SCHWEINFURTH identified the specimens as *Acokanthera Schimperi* (Hochst). (Bth. and Hook.) (10 *d*).

In the north-west of the British Protectorate, the Bari Tribe, near Gondokoro, north of the Victoria Nyanza, about long. 32° E., lat. 5° N., is stated by BAKER to obtain an arrow-poison « from the root of a tree »; but no botanical specimens are known to have been collected (11). In the region to the west of the Bari, the Bongo tribe use an arrow-poison which is stated by SCHWEINFURTH to be derived from the milky juice of *Euphorbia venifica,* in the vernacular, *bolloh,* and is not reputed to be deadly, and STUHLMANN mentions that the Wassongóra, at the north end of Lake Albert Nyanza, also use as an arrow-poison the milky juice of a tree which is known to the people of the coast as « *mküyu* ».

In the Taita region, which lies to the east of Mount Kilimanjaro at the south of the British Protectorate, the evidence is also entirely in the direction that the arrow-poison is obtained from a tree, and that this tree belongs to the genus *Acokanthera.* As early as the year 1851, KRAPF mentions that in the Taita district the poison-wood was an important article of barter, heavy caravan-loads being conveyed to neighbouring districts where the poison-tree is not found (8 *b*).

In 1887, HILDEBRANDT collected in the Taita district, on the Ndara Mountains, specimens, without flowers, of a tree 4 metres (13 ft) in height, named in the vernacular *M'tchungu,* from which an arrow-poison was said to be prepared. These specimens are referred to the genus *Acokanthera,* but the species is not precisely known (20). Other specimens, without flowers, of the reputed poison-tree of this district have been obtained, and have also been referred at Kew to the genus *Acokanthera.*

The botanical origin of the arrow-poison used in German East Africa is not known.

The tribes inhabiting the coast-regions for a distance of about 100 miles north and south of Mombasa have long been known to use an arrow-poison, but the botanical specimens received by us, the first of which were obtained in 1889, and identified as having been taken from a tree belonging to the genus *Acokanthera,* are apparently the first botanical specimens that have been obtained from the coast-regions and identified. An arrow-poison of this coast-region, however, was examined by GERRARD, in 1880, and found to contain a glucoside, which was not obtained in a crystalline form; and RINGER determined that it acted as a powerful muscle-poison, like Digitalis (26). The general physical characters of this arrow-poison have already been described by one of us; and the prominent features of its pharmacological action and of that of Strophanthus have been shown to be apparently identical (4 *c*).

With the exception, therefore, of the specimens obtained on the border of Kikuyuland, several hundred miles inland, by Count TELEKI and Lieutenant VON HÖHNEL, no flowers of a poison-tree have been obtained by the travellers who have collected specimens of the poison itself, or of the wood from which it was reputed to be prepared. The flowers obtained by Count TELEKI and Lieutenant VON HÖHNEL have been identified by SCHWEINFURTH as those of *Acokanthera Schimperi* (10 *d*), but no specimens of the wood of the actual tree from which the flowers had been obtained appear to have been brought from Africa, or, at any rate, no reference is made by SCHWEINFURTH or by these travellers to any chemical or pharmacological examination of the wood. The relationship between the arrow-poison of that region and the tree producing the flowers, therefore, does not appear to have been established.

**Specimens obtained by us of the plant yielding the poison, of the poison itself, and of the poisoned arrows and spears.**

In 1889, one of us received from the Rev. WILLIAM MORRIS of the Church Missionary Society, through Dr. ARDAGH, specimens of an arrow-poison and of the root of a tree used to prepare this poison, from the district of Giriyama, a coast-district between Mombasa and Melinde. The only name said to be given by the natives to the tree was « *chungu* » (in the Swahili = bitter) (26[a]).

In 1890, Mr. WILLIAM MORRIS forwarded to one of us from Chaga, Kilimanjaro, several pieces of poison-wood along with several poisoned arrows and the arrow-poison itself, which he had obtained from a travelling-party of Wa-Kamba hunters who visited Chaga. Mr. MORRIS mentions that the poison was named « *sumu* » (Ki-Swahili) and *uroi* (?) (Ki-Chaga) = poison (27). We did not obtain a crystalline glucoside, except in minute quantity, from the poison or the wood from either of these supplies; but the amorphous glucoside obtained was found to be extremely poisonous. While at Shimba, a station near the coast, lying a short distance to the south-west of Mombasa, Mr. MORRIS made enquiries about the source of the arrow-poison used in the district, but the Wa-Digo tribe would neither give any information, nor sell any of the poison-wood. In the Giriyama district, which lies between Mombasa and Melinde, Mr. MORRIS was informed that the poison-trees were to be found in considerable numbers, but, owing to illness, he was unable to visit the places. Contrary to his experience in the Wa-Digo district, he found the natives of Giriyama quite willing to give information about the poison-tree and to sell the wood, twigs and leaves. These specimens were sent to us

by Mr. MORRIS, and we identified them as belonging to a species of *Acokanthera,* and found that the wood yielded an extremely active crystalline glucoside. Mr. MORRIS did not succeed in obtaining the flowers or fruit of the poison-tree. The tree was said to grow to the height of 7,6—9,1 m., (25 to 30 ft.), and is named in Giriyama « *Utsunga* » (« Ushungu », Ki-Swahili). It is an evergreen, only losing its leaves after a very prolonged period of dry hot weather. The flowers are said to be small and red, and to appear after the heavy rains of April. The fruit is produced in July and resembles a large dark plum, two, three, or even four occurring at the end of a twig. Birds and animals which happened to eat the fruit were said to die at or near the tree. The arrow-poison named « *sumu* » was almost invariably obtained from the stem and branches of the tree, as it was troublesome to get the roots, and as the stem and branches were considered to be equally efficient. In preparing the arrow-poison, the wood was first allowed to dry, and then cut into small pieces and boiled with water, fresh supplies of wood being added to the pot and the exhausted wood removed from time to time. A day and a half was occupied in boiling down a quantity of wood, and the extract was made up into small packets (Plate II, Fig. G) which were sold for about 1s. 8d. each (27).

In the meantime, through the kind influence of the late Mr. A. Low BRUCE of Edinburgh, a Director of the Imperial British East Africa Company, efforts were being made by the Officials of this Company to obtain the specimens of the plant required for its specific identification.

A description of the poison-plant and also specimens of the wood which the Rev. WILLIAM MORRIS had sent, and from which we had separated a crystalline active principle, were forwarded to Mombasa. Mr. JAMES WEAVER, an Assistant at the Magarini plantation, near Melinde, after much difficulty (1) at last found the poison-tree growing in considerable

(1) The special difficulties encountered by the Reverend Messrs. MORRIS and HOOPER and by Mr. WEAVER in obtaining the flowers of the poison-tree were :

1. That the natives, although in some districts not averse to bartering the arrow-poison and pieces of the poison-wood, would not point out the trees, which were to be found only at a distance of several days' journey from the Mission Station ;

2. That the natives would on no account procure the flowers, as the elders of the tribes believed that the trees would lose their « *powers* » if the flowers were removed ;

3. That the period of flowering occurred usually in June, July or August, after the heavy rains, and the flowers were reported to precede the fruit by only a few days, and might therefore easily be missed ; or

4. That in years when the rainfall was slight the trees were reported not to flower.

numbers at the back of the Magarini Hill (27). Specimens of the wood, leaves and fruit were collected in 1892, and forwarded to us by Mr. E. J. L. BERKELEY, Administrator of the Company at Mombasa (28). The wood proved, on chemical examination, to be that which was sought for. In 1893 and also in 1894, Mr. J. R. W. PIGOTT, Acting Administrator at Mombasa, forwarded to us specimens collected by Mr. WEAVER, not only of the wood and leaves, but also of the flowers of these plants, and thus completed the materials required for botanical identification (29). In accordance with our request, specimens of wood, leaves and flowers had been taken from the same individual tree. Shortly afterwards, these specimens were followed by a quantity of the fruit also gathered from the same trees as the above specimens had been taken from.

The description of the poison-tree given by Mr. WEAVER agrees generally with that obtained by Mr. MORRIS from the natives in Giriyama. Mr. WEAVER at first estimated the height of the tree to be about 9,1 m. (30 ft), or more; and one tree was found to have a circumference of 0,78 m. (30 inches) at a level of 0,95 m. (3 feet) above the ground (27). On measurement the trees were found to have a maximum-height of 4,5—5,4 m. (15 to 18 feet), and a maximum-diameter of 27,9—30,5 cm. (11 to 12 inches) (27[a]). These trees near the coast therefore, would seem to differ considerably in size from those found by Count TELEKI and Lieutenant von HÖHNEL in South Kikiyuland, at an elevation of over 1830 m. (6000 ft), and by Mr. G. F. SCOTT ELLIOT in the Ulu Highlands (Ukambani) at an elevation of 1525—1829 m. (5000—6000 ft), but to agree with the descriptions of the poison-tree *Wăba* of North Somaliland given by VAUGHAN (14), BURTON (15 *d*) and HILDEBRANDT (16).

Mr. WEAVER found that the whole tree, including the leaves, contained a milky sap having the appearance of the sap of the India-rubber tree. The fresh leaves were of a bright glossy green colour. In favourable years the tree flowers and fructifies twice in 12 months, in April and in November or December. If the rains are late the tree may not flower until June. The flowers were white in colour, had a strong sweet lilac-like odour, and « a tree in blossom may on a damp day be found by the smell alone » (29, 30, 31). The fresh ripe fruit was crimson in colour, was about the size of a small cherry and occured in pairs, seldom more, on the opposite sides of the small branches. Both Mr. WEAVER (27[a]) and the Rev. DOUGLAS HOOPER (27[a]) state that the WaNyika select the wood to prepare their arrow-poison from trees near which are found the skeletons of birds and small gazelles *(paa)*, poisoned by eating the fruit.

We are also much indebted to the Rev. DOUGLAS HOOPER of Jilore (a Mission Station near the Sabaki river, and some 30 miles inland from Melinde) for specimens of the poison-wood, which we found to be identical with those sent by Messrs. BERKELEY and PIGOTT, and for having sent, in February 1894, a supply of 20 packages (Plate II Fig. G) of the arrow-poison used by the WaGiriyama. This arrow-poison has been found by us to be very active, and to contain a large amount of the same crystalline active principle as that which exists in the wood.

In March 1894, Mr. CARRUTHERS, of the Natural History Department of the British Museum, forwarded the leaves and twigs of an Apocynaceous plant which had been sent from « Machakos » (v. note, p. 423), Eastern Equatorial Africa, in December 1893, by Mr. G. F. SCOTT ELLIOT for transmission to one of us. In his letter to Mr. CARRUTHERS, Mr. SCOTT ELLIOT describes the plant as a shrub or small tree, which appears to grow only at an altitude of about 1525 – 1829 m. (5000—6000 ft). The WaKamba name the plant « *Kibai* », and prepare an arrow-poison by boiling the chopped leaves, twigs and branches in water, and concentrating the decoction by boiling. The twigs and leaves were found by us to exactly resemble those of *Acokanthera Schimperi,* and to possess, in frogs, a similar pharmacological action.

**Description of the arrow-poison, and of its method of preparation.**

The WaNyika, WaKamba and WaGiriyama arrow-poisons which we received were contained in cylindrical packets constructed of several layers of leaf (maize or palm) secured at the ends and tied round with a fibre or cord which was continued at one of the ends into a loop for suspending the packet (Plate II, Fig. G). The average weight of a packet of the WaGiriyama arrow-poison, including the covering, was found to be 40,9 grams (632 grains). The poison is of a black colour both externally and internally, and the consistence in some specimens is brittle and resinous; but recently prepared specimens are of an earthy brown colour internally, and the poison has a plastic consistence. With water, the poison forms an opalescent brownish solution having a slightly acid reaction but no distinctly bitter taste. With alcohol (Sp. Rectif. sp. gr. = 0,838), a brownish-red solution is formed; but a large part of the poison remains undissolved.

Over the wide area of country that has been referred to, all travellers agree that the arrow-poison is prepared by concentrating, over an open fire, a decoction of the wood of the root or of the stem and branches, and

only rarely of the leaves, of a tree which, as we have seen, bears different names in different regions.

From the packets of WaGiriyama arrow-poison received from the Rev. Mr. HOOPER, and from the poison on the arrows received from Dr. HORSBURGH, a glucosidal active principle, in the form of colourless glass-like crystals, was readily separated by the method described under the chemistry of *Acokanthera Schimperi*.

**Description of poisoned arrows and spear.**

The arrows used by some of the tribes in the mountainous coast-regions of North-East Somaliland, and obtained by RÉVOIL, are described and figured by MM. ROCHEBRUNE and ARNAUD (17 *c*); and JAMES (13 *c*) gives a general description of those used at Burao, in the interior of North Somaliland. A description has also been given by one of us of the arrows used in the coast-region some 75 miles north-west of Zanzibar, and in the WaNyika country (4 *d*). (Plate I, Figs. A and B.)

Three sets of poisoned arrows and a poisoned spear have since been obtained. One set of arrows was sent by the Rev. Mr. MORRIS from Chaga, Kilimanjaro. It was obtained there from a travelling-party of Wakamba. It would appear that some of the Wakamba, who are great hunters, make the long journey from Ukambani to Kilimanjaro to hunt elephants, with poisoned arrows, in the rainy season. At this season elephants descend from the thick forest on the mountain to the bush on the plains, where they are accessible (5[a]). Another set of arrows was presented to one of us by Mr. J. H. HORSBURGH M. B., who obtained it at a village 40 miles inland from Mombasa, in the direction of Kilimanjaro. The third set, consisting of twelve arrows and a leather quiver, was obtained from the WaNyika near Melinde, and was sent by Mr. JAMES WEAVER. The poisoned spear was presented to one of us this year by Dr. BAXTER. It was purchased from one of the Wandorobbo tribe, a tribe found scattered through Masailand, especially to the south and west of the Lykipia plateau.

The arrows in the first set (Plate I, Fig. D) have a total length of 69.8 cm. (27 $^1/_2$ inches). The shaft is made of a smooth light straw-coloured wood 6,3 mm. ($^1/_4$ inch) in diameter. Three elliptically cut parallel feathers are attached, by fine fibre, 20,3 mm. ($^4/_5$ inch) from the bowstring notch, which is 3,1 mm. ($^1/_8$ inch) in depth and has parallel sides. The shaft at the bowstring notch is strengthened by being bound with what resembles animal membrane, and, between the notch and the feather, the shaft is bound with what appears to be thick hair (elephant's ?).

The fibre securing the feathers is carried round the shaft for a distance of 2,5 cm. (1 inch) above the feathers, in the direction of the arrow-head, and the shaft between and for this distance above the feathers is coloured red. The top of the shaft is hollowed out, to receive the arrow-head, to a depth of 1,3 cm. (1/2 inch), and the hollow part of the shaft is strengthened externally by folds of membrane (?) for a distance of 2,8 cm. (1 1/8 inch), and 12,7 mm. (1/2 inch) below the hollowed-out part the shaft is bound with thick hair for a distance of 3,8 cm. (1 1/2 inch). The head of the arrow is separable from the shaft and is 14,6 cm. (5 3/4 inches) long, and consists of a barbed iron portion and a straight wooden portion 8,1 cm. (3 3/16 inches) thick, which passes into the hollow at the end of the shaft for a distance of 8 mm. (5/16 inch). The extremity of the head is triangular in shape, and is 20,3 mm. (4/5 inch) long and 19 mm. (3/4 inch) in breadth at its broadest part; the wings are flat and nearly symmetrical and their bases project nearly at right angles to the shaft. The junction of the iron and wooden portions of the head is concealed by a layer of poison 1,6—3,1 mm. (1/16 to 1/8 inch) thick, which covers the whole of the exposed straight portion and the middle of the triangular portion of the head. A long strip of thin skin is wound spirally round the arrow-head and completely protects the poison (1).

The arrows in the second set (Plate I, Fig. C) very closely resemble the first, but no hair is wound round the shaft below the hollowed-out part where the head is inserted. The arrows in the third set are similar to the arrow represented in Plate I Fig. B. All the arrows differ considerably from those obtained by RÉVOIL in the north-east of Somaliland.

The Somali arrows have a total length of only 36—41 cm. (14—16 inches), the head is short and small, the barbs are of considerable relative length and form an acute angle with the shaft, and the shaft has four feathers.

The spear-head (Plate II, Figs E and F) is 58,4 cm. (23 inches) long. The shaft is composed of hard light-coloured wood and is 53,3 cm. (21 inches) long and has a maximum diameter of 15,8 mm. (5/8 inch). Into one end of the shaft is inserted a winged iron head, which, including the wings, is 6,3 cm. (2 1/2 inches) long and has a breadth of 31,7 mm. (1 1/4 inch) at the widest part of the wings, which are unequal and are

(1) The strip of skin must be removed before the arrow can be used effectively, and travellers where these poisoned arrows are used have therefore found the unwinding of the strips of skin to be a useful danger-signal (10 a).

prolonged down the shaft at an acute angle. The other end of the shaft is tapered so as to fit loosely into a hollow at the end of a heavy spear-handle. A thin strip of skin is wound spirally round the head and down the shaft for a distance of 35,6 cm. (14 inches), and, on unwinding this, the black resin-like poison, coloured here and there yellow by the adherent inner layer of the strip of skin, is seen thickly smeared round the wood, especially over the 15 cm. (6 inches) of shaft nearest the iron head. These poisoned spear-heads, detachable from the handle, are thrown at elephants at close quarters.

When administered to cold or to warm-blooded animals, the poison in the packets, on the arrows and on the spear-head, was found to be very toxic, and to produce the same effects as the extract and crystalline glucoside obtained by us from the wood of *Acokanthera Schimperi,* whose action is described in the pharmacological section of this paper.

A gourd containing a native antidote against the WaNyika arrow-poison, was kindly sent by Mr. JAMES WEAVER from Melinde in 1894. We found it to possess no antidotal power.

## 2. BOTANICAL DESCRIPTION.

The genus *Acokanthera* (ἀκωκη = a mucrone, ἀνθηρα = an anther; anthers mucronate) was founded in 1838 by G. DON (45). It is a genus of the natural order Apocynaceæ and is very closely related to the genus *Carissa,* which differs from it chiefly in possessing thorns on the branches.

BENTHAM and HOOKER (32) give the following description of the characters of the genus *Acokanthera :*

« Calyx 5-partitus, eglandulosus, segmentis acutis. Corolla hypo-
» crateriformis, tubo cylindraceo tenui ad stamina parum dilatato, fauce
» esquamata; lobi 5, contorti, sinistrorsum obtegentes. Stamina sub apice
» tubi inclusa; antheræ lanceolatæ, obtusæ v. acutiusculæ, loculis basi
» inappendiculatis. Discus o. Ovarium integrum, 2-loculaire; stylus
» filiformis; stigma oblongo-incrassatum, pilosulum, apiculo breviter
» 2-fido; ovula in quoque loculo » 1—4, a basi erecta. Bacca globosa,
» 1—2 sperma. Semina..... Frutices elati v. arbusculæ, inermes. Folia
» opposita, crasse coriacea, oblique pennivenia. Cymæ subracemosæ,
» densæ, in axillis subsessiles. Flores albi v. extus rosei, odorati. »

*Acokanthera Schimperi* has been successively named *Strychnos Abyssinica* Hochst., *Carissa mepte* Hochst., and *Carissa Schimperi* A. D C. (33).

In the vernacular it is named in Abyssinia, *muptäh, mörsë, mepda, meptá, maktát* (33, 22); in East Equatorial Africa, *morio* (10 *c, d*) or *murju*

(7 *b*, 22) *kibai* (v. page 358), *Ushungu* (v. page 356); and, in Somaliland, *Waba* (13 *e*, 16).

RICHARD gives the following description of *Carissa (Acokanthera) Schimperi* : « C. inermis, glabra; ramulis viridibus glabris; foliis oppositis » brevissime petiolatis ellipticis, acutis, rarius obtusis, basi obtusis aut » sensim attenuatis coriaceis, glabris; floribus axillaribis, racemos simplices » folio breviores efformantibus; calycis 5-partiti laciniis lanceolatis acutis » ciliatis; corollæ tubuloso-hypocrateriformis laciniis ovali-suborbicular-» ribus obliquis, apice acuminatis ciliatis; fructu ovoideo carnoso pruni-» formi levi, abortu sæpius monospermo » (33 *a*).

The specimens for the following description of the plant were obtained, as has been stated, from the coast-region near Melinde, East Equatorial Africa.

**Root.**

The root is much fissured longitudinally, and bent pieces show many transverse fissures. The bark of the root is reddish-brown in colour, and its outer layer is flaky and easily detached; the underlying surface being greyish-brown. In a section of a piece of root measuring 1.3 cm. and 2 cm. transversely in opposite directions, the bark had a thickness of 0.1 cm. ($^1/_{25}$ inch).

When magnified about fifty times, a transverse section of the dry bark shows two layers of about equal thickness, distinguished by their colour. The outer layer is composed of a pale grey-coloured loose tissue, the inner of a denser tissue of a reddish colour. These two layers are separated by a band of tissue of a very dark colour, and, in some sections, the outer grey-coloured layer is intersected by dark lines which join the middle dark band. The inner layer is dotted with oval or rounded patches, which have a pale straw-colour and a glistening appearance, and are very prominent amidst the reddish-coloured ground-tissue; and in this layer there are a few oval-shaped open spaces.

The wood of the root is of a yellowish-white colour, and is hard, heavy and of fine texture. The medullary rays, as seen with a lens, are very fine.

The root is without odour and has little or no bitter taste.

**Stem and branches.**

A piece of branch 68 cm. (26.7 inches) long had a circumference of 14.6 cm. (5.7 inches) at one end and 10.8 cm. (4.3 inches) at the

other, and weighed 567 grams. The transverse section was nearly circular. In a piece of wood measuring in diameter 4.5 cm. (1.7 inch), the bark was 3 mm. ($^3/_{25}$ inch) thick, and of a yellowish-brown colour. In thick pieces of wood the bark is much cracked in a longitudinal direction, but in thin pieces it is comparatively smooth. The outer layer of bark, more particularly in the thick pieces of wood, is rough, flaky and easily detached. The inner layer of bark is reddish-brown and is firmly adherent to the wood. The bark is without odour and has only a slightly bitter taste.

The wood is yellowish-white, odourless, of a fine texture and extremely hard. It has a distinct, though slight, bitter taste, and, when a little of the powdered wood is inhaled into the nostrils, sneezing is produced, and a slightly bitter taste is afterwards perceived. A transverse section shows, under the lens, numerous very fine medullary rays. A few pieces of the wood received by us were riddled by large holes made by the larvæ of an insect, and one of these larvæ, measuring 3 cm. ($^1/_{15}$ inch) in length, was found alive.

The histological features are those of the genus *Acokanthera* (35).

The sclerenchymatous bast-cells are very prominent and occur in large groups (Plate III, Figs. 1 and 2) in the liber; but in the cortical parenchyma, between the layers of cork-tissue, they occur for the most part singly or in twos and threes, less frequently in large groups. In the cortical parenchyma these thickened cells appear as large as, and sometimes larger than, the surrounding parenchyma cells; but in the liber the sclerenchymatous cells are always larger than the surrounding cells.

Some wood, with bark, which was believed to be the wood of the poison-tree of the district, was sent to us from Taita in 1889. We found this wood to be extremely toxic; but it did not yield a crystalline glucoside, except in small quantity. Sections made for us in Professor BALFOUR's laboratory at the Botanic Gardens in Edinburgh, and sections which we ourselves made, possessed the general characters of the bark and wood of the genus *Acokanthera*. The size of many of the sclerenchymatous cells, however, is considerable, exceeding, in the cortical parenchyma by two or three times, and in the liber by five to ten times, the cells of the surrounding ground-tissue (Plate III, Fig. 4).

On comparing sections of this bark and wood with sections, of the same diameter, of the bark and wood of *Acokanthera Schimperi*, we found that the sclerenchymatous cells of the latter were usually absolutely smaller than those of the former, and were, in the cortical parenchyma,

about equal to, and in the liber, not usually more than two or three times larger than the cells of the ground-tissue (Plate III, Fig. 3).

On examining sections of a branch of *Acokanthera venenata* from South Africa, we found that, in the bark, the numbers and sizes of the sclerenchymatous cells constituting the groups (Plate III, Fig. 5) usually did not agree closely with those in the sections of a branch of the same size (diam. 1.6 cm.) of *Acokanthera Schimperi*, but agreed rather with those of the unknown species which we had obtained from Taita (Plate III, Fig. 4). There was this further agreement between the wood from Taita and the wood of *Acokanthera venenata*, that only an amorphous glucoside was separated from each of them by chemical processes which were readily successful in separating a crystalline glucoside from the wood of *Acokanthera Schimperi*; but, on the other hand, the wood from Taita yields an active principle which differs from that of *Acokanthera venenata* and *Acokanthera Schimperi* in being readily precipitated by tannin from dilute solutions in water. Although on simple inspection, therefore, these specimens of wood appear very similar, and although, as we found, they differ little in toxicity, it is probable that in at least the Taita district of Tropical East Africa an arrow-poison is derived from the wood of one or more species of *Acokanthera* other than *Acokanthera Schimperi*. The materials hitherto obtained by us have, however, been sufficient for the identification of *Acokanthera Schimperi* only.

### Leaves.

The dry leaves are thick, leathery and glabrous, and the margin is sub-reflexed. They are slightly wrinkled, and vary in colour from light and dark green to olive and deep reddish-brown. In some of them, one half of the leaf is brown and the other half green, and the different colours appear to depend, to some extent at least, upon the conditions of drying.

The upper surface of the leaf is shining and very thickly glazed, the under surface is dull. To the touch, the leaf is smooth, the veins not being raised above the surface. They are usually best seen on the upper surface, but in the deeply discoloured leaves the venation is very indistinct on both surfaces.

The primary veins number from 4—9, and most leaves possess from 5—6.

On measuring twenty-one leaves of different shapes and sizes, we found the length to vary from 4—9 cm. and the breadth from 2.1—4.8 cm., giving an average length of 5.9 cm. (about 2 1/4 inches) and an average breadth of 3.3 cm. (about 1 1/4 inch).

The shape, even of leaves on the same branch, varies considerably; but the majority are elliptical, with the apex acute and the base tapering. Oval, ovate, ovate-lanceolate, obovate and oblique forms however occur; and the apices of some leaves are emarginate and of others cuspidate (Plate IV, Fig. 1).

The leaves of *Acokanthera venenata,* of which we have examined a large number obtained from South Africa, are distinguished from those of *Acokanthera Schimperi* by the upper surface being much less glazed, by the consistence of the leaf being less leathery, and by the primary and secondary veins being much more prominent on both surfaces. The primary veins are also generally more numerous (5 to 9 usually) than in *Acokanthera Schimperi.* The shape of the leaf is often the same as that of the leaf of *Acokanthera Schimperi;* but the latter is usually more ovate in form. The colour is usually green; but, among hundreds of leaves, some coloured deep yellowish-brown are to be found.

The leaves of *Acokanthera spectabilis,* of which we obtained only a small number, are easily distinguished from those of *Acokanthera Schimperi* by being much less glazed on the upper surface and much less leathery in consistence, and by their greater length (7—13 cm.), lanceolate shape, and numerous (about 8—12), though very faintly marked, primary veins.

**Flowers.**

The flowers are grouped in simple axillary racemes (Plate IV, Fig. 1) bearing from 9 to 15 flowers, which are said to be white in colour. The dried flowers are reddish in colour.

The calyx-lobes are glabrous on both surfaces. In most calyx-lobes the margins are densely and in others sparsely covered with hairs; but some calyx-lobes are quite free from marginal hairs (Plate IV, Fig. 5). In this respect the calyx-lobes of *Acokanthera Schimperi* agree with the calyx-lobes of *Acokanthera venenata,* some of which are quite glabrous, while others have marginal hairs (1).

The corolla-tube measures from 7 mm. to 1 cm. to the base of the corolla-lobes, which in the wet specimens are expanded horizontally. The corolla-lobes have marginal hairs. The corolla-tube is quite glabrous (Plate IV, Figs. 2, 3, 4) externally, whereas a noticeable feature of the

(1) An additional small supply of the flowers of « the poison-tree » was sent by Mr. WEAVER from Magarini, near Melinde, in June 1894. All the calyx-lobes of this specimen possess marginal hairs.

corolla-tube of *Acokanthera venenata*, as described and figured by HARVEY (36), is that it is sparsely or densely pubescent. This feature was found to be present in three specimens of *Acokanthera venenata* which we examined, viz : (*a*) a dried specimen labelled *Toxicophlœa cestroides*, from the Herbarium, Royal Botanic Gardens, Edinburgh; (*b*) a growing specimen cultivated in the Royal Botanic Gardens, Edinburgh; and (*c*) a dried specimen from South Africa. The corolla-lobes of *Acokanthera venenata* are less rounded and less oblique in form, and the apices are more acuminate than those of *Acokanthera Schimperi;* and the corolla-lobes of *Acokanthera spectabilis*, as figured and described by HOOKER (37), are « spreading, ovate-oblong acute ».

The anthers of *Acokanthera Schimperi* are sometimes rather acuminate, and they may be distinguished from those of *Acokanthera spectabilis* by the absence of any distinct terminal claw (37), and from those of *Acokanthera venenata* by being generally more broadly ovate, shorter, and by the apex being generally less acute (36) (Plate IV, Figs. 7 and 8).

In our specimens the stigma is in some cases emarginate, in others bifid. The stigma is less bifid than that figured by HARVEY (36) for *Acokanthera venenata*, and differs from it also in form (Plate IV, Fig. 6). The shape of the stigma, however, is evidently not a constant feature, because we have examined specimens of *Acokanthera venenata* in which the stigma closely resembles that of both *Acokanthera Schimperi* (33 *b*) and *Acokanthera Spectabilis* (37).

**Fruit.**

The fruit is ovoid, smooth and fleshy. The largest sizes have, as preserved in alcohol, an average length of 2.2 cm. (about 1 inch) and an average breadth of 1.8 cm. (about $^3/_4$ inch) (Plate IV, Fig. 9).

The seeds are usually two in number (Plate IV, Fig. 10); frequently one is aborted (Plate IV, Fig. 11).

Seeds obtained from partially dry fruit, two months after it had been gathered, were found to be flat or slightly concave on the face, which is nearly circular in form, and rounded on the outer surface, smooth, and of very pale waxy translucency and of firm waxy consistence. On drying, the seeds become opaque and of horny consistence. When a large portion of a seed is chewed a mild agreeable bitterness is perceived, and in a short time there is a sensation as of dryness at the back of the mouth. The seed measures about 12 mm. in length, 10.5 mm. in breadth and 5.5 mm. in thickness. The thickness is increased to 6.5 cm. if only one seed is present in the fruit.

Extracts of the leaves and of the seeds of *Acokanthera Schimperi* were administered to cold-blooded animals and were found to be actively poisonous and to produce the same effects as the extract and crystalline glucoside obtained from the wood. The pulp of the fruit, which has very little poisonous activity, has an agreeable, sweet, slightly aromatic taste, probably sufficient, in the fresh fruit, to cover the moderate bitterness of the seeds and render the fruit attractive. The statement that the WaNyika prepare their arrow-poison from a tree around which are to be found the bones of birds and gazelles poisoned by the fruit is thus doubtless correct; and the statement that the fruit of the poison-tree of North Somaliland is edible (15 *a*, 16) is probably incorrect, and refers to the fruit of the allied *Carissa edulis*.

Specimens of the flowers and leaves of this WaNyika poison-tree which we have described, collected by Mr. WEAVER in June 1894, were forwarded by us to the Royal Gardens, Kew, and were there identified as « typical *Acokanthera Schimperi* Benth. & Hook. » (38 *a*), and specimens of the fruit collected by Mr. WEAVER from the same trees in November 1894 were similarly identified at Kew (38 *b*).

We are much indebted to Dr THISELTON-DYER, Director, Royal Gardens, Kew, and to other Botanical authorities there, for the great trouble they have from time to time taken in the examination of specimens.

The first specimen of the North Somaliland poison-tree *(Wabei* or *Wàbá)* procured, as has already been mentioned (v. p. 351), by VAUGHAN (14), was referred by HANBURY (14), as far back as 1852, to the genus *Carissa,* and its close resemblance to *Carissa Schimperi* A. D C. (*Acokanthera Schimperi*) was pointed out. Sections of later specimens of the branches of a poison-tree of North Somaliland are figured by CATHELINEAU (19 *a*, 39 *b*). In the absence of the material necessary for the identification of the species, this tree has been provisionally named *Carissa ouabaïo* FRANCHET and POISSON (16,39 *b*), and, later, *Acokanthera ouabaïo* (19 *a*, 39 *b*). The sections of the branches of *Acokanthera Schimperi* now figured by us seem to be practically identical with those of the Somaliland specimen (39 *a*), and the characters of the root and stem likewise agree. The same crystalline active principle is present in both plants. The species of the Somaliland poison-tree is probably, therefore, the same as that of the tree which we have found to be the source of the arrow-poison of the regions of East Africa near the coast north of Mombasa, — namely, *Acokanthera Schimperi*.

## B) CHEMISTRY.

**Arrow-poison.**

Chemical examination of arrow-poisons usually proves somewhat unsatisfactory, since the poison can generally be obtained only in small quantities at a time, and since successive supplies may not only consist fo varying mixtures of substances, but these may have been partially decomposed in the processes adopted by the natives for producing an extract.

A small quantity (37 grams) of the WaKamba arrow-poison was extracted with water, the watery solution shaken with ether, and, after its separation, absolute alcohol added to the watery solution. The alcoholic solution was decanted from the precipitate which formed, and on the addition of ether to the alcoholic solution, a considerable precipitate was thrown down. When a small quantity of water was added to this separated ether precipitate a considerable part of the precipitate, including much brownish-red colouring matter, readily dissolved. The slightly yellowish-coloured substance which remained undissolved showed under the microscope numerous plate-like crystals, with rod-shaped crystals here and there.

On mixing a watery solution of the ether precipitate with solution of tannin, decomposing the precipitated tannate by freshly prepared hydrated lead oxide, and recrystallizing several times from rectified spirit and from absolute alcohol, a pale straw-coloured glucosidal substance, only partly crystalline, was obtained, which represented 2,2 per cent. of the arrow-poison.

The arrow-poison obtained about 40 miles inland from Mombasa (p. 359) and the WaGiriyama arrow-poison (p. 358), when subjected to a process essentially the same as that to be described for separating the active principle of the wood of *Acokanthera Schimperi,* readily yielded numerous needle-shaped crystals, arranged for the most part in the form of rosettes.

The above crystals were found to possess the same actions as the crude poison itself and as the extract and crystalline active principle separated from the wood of *Acokanthera Schimperi*.

**Wood of Acokanthera Schimperi.**

The wood of *Acokanthera Schimperi* reduced to the form of a coarse powder, yields, when slowly percolated with five times its weight of rectified spirit (Ph. B.) and finally with half its weight of weak alcohol, about

5 per cent. of a brownish-red treacly extract which is difficult to dry.

When water is added to this extract it becomes at first white; but, on being rubbed with a glass rod, it breaks down into gamboge-coloured particles, and yields on filtration and evaporation a pale reddish-yellow substance containing numerous crystals. About 60 per cent. of this alcoholic extract dissolves when it is triturated with about 16 times its weight of water, added in successive small quantities.

On the evaporation of this watery solution, and on the addition to the product of small quantities of alcohol in successive portions, most of the colouring matter is readily dissolved, and may be removed by decanting the alcohol from the crystals. In our earlier processes, the further purification was effected by frequent recrystallizations from strong alcohol (sp. g. 0,838), digestion with charcoal, and precipitation by ether from saturated solutions in strong alcohol. In our later processes, we added to the above several crystallizations from hot solutions in distilled water, and, as will be pointed out, thus obtained the active principle in a state of absolute purity. When care was taken to recover as much as possible of the active principle, removed by the frequent crystallizations and washings, the total quantity of pure crystalline active principle that was obtained represented 0,35 per cent. of the wood.

Obtained from strong solutions in alcohol by precipitating with ether, the active principle occurs in the form of minute, colourless, thin, needle-shaped crystals, which usually group themselves in tufts and rosettes. When crystallized from water, it has the form of glistening quadrangular plates, some of which are visible to the naked eye.

At a temperature of between 13° and 15° C. the crystals are soluble to the extent of about 0,93 per cent. in distilled water; of 0,41 per cent. in absolute alcohol; of 0,45 per cent. in diluted alcohol of sp. gr. 0,838; of 2,4 per cent. in diluted alcohol of sp. gr. 0,920. They are less soluble in acetone (0,1 per cent.), amylic alcohol (0,04 per cent.); and petroleum ether boiling below 50° C. (0,015 per cent.); and are altogether insoluble in ethylic ether and chloroform. Much larger quantities are dissolved by hot than by cold water or alcohol; and, when hot saturated solutions are allowed to cool, they retain in solution a much larger quantity than can be dissolved by cold water or alcohol.

Ether, chloroform and petroleum ether precipitate the active principle in a crystalline form from solutions in strong and dilute alcohol. Crystals are also precipitated, though only in small quantity, from a saturated solution in acetone by ether, chloroform and petroleum ether. The largest

quantity of crystals is obtained by the addition of absolute ether to a saturated solution of the active principle in water. The crystals thus precipitated usually assume the form of rosettes composed of small needles, or of long and very slender interlacing rods.

A saturated solution in cold distilled water is tasteless; produces a sensation as of dryness of the fauces; is neutral in reaction; and is affected, in an obvious manner, by very few chemical reagents.

**Reactions of the active principle.**

The following results are obtained on the addition of various reagents to the dry crystals :

A drop of strong sulphuric acid added to a few minute particles of the crystals produces within a few seconds a pink colour which, within five minutes, has deepened to a brick or cherry-red. The red passes to a chocolate colour which, within from 15 to 60 minutes, fades to a light brown, and also shows a bluish-green colour, sometimes faintly, sometimes strongly marked.

When a few particles of the crystals, to which a drop of strong sulphuric acid has been added, are heated to between 40° and 50° C., there are produced within the first ten minutes brick-red, light chocolate and deep chocolate colours, and chocolate-brown with a green tinge at the margins, and the green tinge passes within the next forty minutes through the brown until the whole is pure green.

With a drop of 10 per cent. sulphuric acid a colourless solution is produced, which, when heated to 40° or 50° C., becomes, within 15 minutes, faint reddish-yellow in colour, and, within about an hour, brownish-yellow, brownish green, and then nearly pure green colours are formed.

On the addition to the crystals of strong or dilute (10 per cent.) nitric or hydrochloric acid, colourless solutions form. On heating these solutions to 50° C. no distinct colour-changes are produced.

Strong sulphuric acid and bichromate of potassium produce, in the cold, yellow, greenish-yellow and finally emerald-green colours. On being heated to from 46°—51° the green colour becomes darker, and after about an hour a brown colour is slowly formed.

In the presence of bromine vapour, strong nitric acid produces no visible effect. On the addition of strong sulphuric acid to the crystals, in the presence of bromine vapour, a pink colour immediately appears and deepens within fifteen minutes to a dark red; a green colour then appears at the edges, and, fifteen minutes later, the whole has become deep green in colour.

When to the crystals there is added a small drop of distilled water and of a dilute solution of ferric chloride, the addition of a small drop of strong sulphuric acid produces a deep pure yellow colour which is permanent.

When solution of phospho-molybdic acid and an alkali are added to the crystals a blue colour is immediately produced.

Solutions of potash and soda, when added to the crystals, produce a slight yellow colour, which is removed by dilute acids. No visible effect is produced by ammonia, by either weak or strong solutions of carbonate of potassium and sodium or by lime water.

Negative results are obtained on the addition of iodic acid and starch, and of Nessler's reagent.

**Reactions of solution of the active principle in water.**

The following results are obtained on the addition of various reagents to a saturated solution of the crystals in cold distilled water.

Solution of mercurous nitrate immediately produces a copious white precipitate.

Solution of nitrate of silver also produces a white precipitate in a 0,2 per cent. solution of the crystals.

A small drop of dilute solution of ferric chloride and of strong sulphuric acid produce with a drop of the saturated solution of the crystals in cold water a deep pure yellow colour.

Solution of tannin does not cause any change in saturated solutions in cold water, but it throws down a copious white precipitate in cold solutions prepared by saturating water at the boiling temperature, and this precipitate is soluble in an excess of the reagent and in water.

Negative results are obtained on the addition of metatungstate of sodium, tri-iodide of potassium, tri-bromide of potassium, potassio-bismuthic iodide, potassio-mercuric iodide, chloride of gold, platinic chloride, mercuric chloride, stannous chloride, cobaltous chloride, chloride of barium, picric acid, ferro- and ferricyanide of potassium, cupric sulphate, sulphate of zinc, phospho-molybdic acid, molybdate of ammonium in sulphuric acid, acetate and subacetate of lead, baryta water, solution of potash.

The active principle therefore produces few easily observable reactions with chemical reagents, a peculiarity which, when taken into account with its tastelessness and great poisonous activity, may acquire importance from a toxicological standpoint.

**Decomposition of the active principle by acids.**

A saturated solution of the crystals in water gives no reduction change on boiling with Fehling's reagent.

The addition of 0,5 c.c. of a 10 per cent. solution of sulphuric acid in water to a solution of 0,09 gram of the crystals in 10 c.c. of distilled water produces no change in appearance at the ordinary temperature within five days; but when 1 c.c. of this solution is then neutralized and boiled with Fehling's reagent, a slight precipitate of red oxide of copper is slowly produced.

When a solution acidified with sulphuric acid is heated, the temperature being gradually raised during five hours from 33° to 93° C., it becomes slightly opalescent, but does not acquire any specially noticeable odour. When 1 c.c. of this solution is neutralized by means of sodium carbonate and tested with Fehling's reagent, a copious precipitate of red oxide of copper immediately occurs, showing that the active principle is a glucoside. But when a saturated solution of the crystals in water rendered acid by the addition of some 2 per cent. sulphuric acid solution is boiled for merely a minute or two, no appreciable change is effected when tested with Fehling's reagent.

The exact melting point of the crystals is not easily ascertained; but, when dried on the water-bath and reduced to the form of a white powder, the substance becomes transparent at about 182°-184° C., and melts at 184°-186° C.

A clear and colourless saturated solution of the crystals in cold distilled water gives in a column 500 mm. long, at a temperature of 13° C., a specific rotation of-1'38".

The first combustions of the crystalline active principle of *Acokanthera Schimperi*, crystallized from rectified spirit and dried over sulphuric acid, seemed to indicate, as stated in the Preliminary Notice, the probable formula to be $C_{30}H_{52}O_{14}$.

Two later combustions of crystals, dried at 140° C., yielded,

| | *Found.* | | *Theory.* |
|---|---|---|---|
| | I. | II. | $C_{32}H_{48}O_{15}$. |
| C. | 57,28 per cent. | 56,95 per cent. | 57,14 per cent. |
| H. | 7,41 » » | 7,37 » » | 7,14 » » |

The one quantity of crystals lost at 140° C. 8,88 per cent. of weight, while the other quantity, under precisely the same conditions, lost 8.45 per cent. of weight.

From slight irregularities in the results of other combustions it appeared probable that a small quantity of impurity was present. The crystals had been prepared by precipitation from a saturated solution in rectified spirit by the addition of ether. For the complete purification of the crystals it was found necessary also to recrystallize several times from boiling distilled water. Absolutely concordant results were then obtained, as is shown in the following analyses made for us by Dr. DOBBIN of the Chemical Laboratory of the University.

0,1560 gram air-dried crystals, dried for ten hours at 100° C., lost 0,0312 gram = 20 per cent. The residue, 0,1248 gram, gave 0,0855 gram $H_2O$, and 0.2677 gram $CO_2$.

0,1489 gram air-dried crystals, dried for fourteen hours at 100° C., lost 0,0299 gram = 19,94 per cent. The residue, 0,1190 gram, gave 0,0826 gram $H_2O$, and 0,2251 gram $CO_2$.

| | *Found.* | | *Theory.* |
|---|---|---|---|
| | I. | II. | $C_{30}H_{48}O_{13}$. |
| C. | 58,50 per cent. | 58,46 per cent. | 58,44 per cent. |
| H. | 7,61 » » | 7,71 » » | 7,77 » » |

These results are therefore in agreement with those obtained by ARNAUD in 1888 in the analysis of the crystalline active principle of the wood of a doubtful species of *Acokanthera* obtained from North Somaliland, and in the analysis of the crystalline active principle of the seeds of an unknown species of *Strophanthus* obtained from West Africa. When dried at 100° C., both of these crystalline active principles were found by ARNAUD to yield the same results, corresponding with the formula $C_{30}H_{46}O_{12}, H_2O$ (18 *c*), and, when dried at 140° C., with the formula $C_{30}H_{46}O_{12}$ (18 *b*).

In 1882, RÉVOIL had collected in North Somaliland a considerable quantity of the roots of a tree from which the natives prepare an arrow-poison (17 *a*). MM. ROCHEBRUNE and ARNAUD describe the wood of these roots as « tendre, poreux, jaunâtre, léger, d'une odeur aromatique rappe- » lant faiblement celle de cannelle » (17). They, however, were unable to obtain a crystalline active principle from these roots. Only an amorphous glucoside was separated, which was named « *Ouabaïne* », and which, dried at 120° C., on analysis yielded (17) C. 48,3 per cent., H. 6,5 per cent.

It is probable, therefore, that this non-crystalline *Ouabaïn* obtained by ROCHEBRUNE and ARNAUD in 1882 is not the same substance as the crystalline body (C. 58,14 per cent., H. 7,67 per cent.), also named « ouabaïne », obtained by ARNAUD in 1888; and that the non-crystalline

*Ouabaïn* was not obtained from a plant of the same botanical species as the crystalline *Ouabaïn*.

Similar events occurred in the course of our investigation. Certain supplies of the poison-wood from various localities of Eastern Equatorial Africa yielded a glucosidal active principle which was amorphous, while other supplies from the same localities, of what was regarded as and appeared to be the same wood, when treated in exactly the same way, readily yielded a glucosidal active principle which was crystalline; and the different specimens of wood, also, were found to be almost equal in toxicity.

A third substance, a hydroscopic bitter amorphous glucosidal body, has recently been separated by LEWIN (40) and by MERCK (40) from the wood of an *Acokanthera* species found in Yemen and Erythræa and named *Acokanthera deflersii* SCHWEINFURTH. This substance, dried at 100° C., on analysis yielded C. 59,35 per cent., H. 7,88 per cent. It thus differs from the amorphous *ouabaïn* of MM. ROCHEBRUNE and ARNAUD, and from the crystalline *ouabaïn* of ARNAUD; but the name « *ouabaïn* » is also given to it (40). Three different substances, therefore, possess the same name.

The name « *Ouabaïne* » is apparently a modification of *Wăbáyo* (BURTON) (15 *d*), the Somali name of an arrow-poison. As no material sufficient for the complete botanical identification of the North Somaliland *Acokanthera* species used to prepare the arrow-poison has yet been obtained, it is not certain that such a species actually exists as the provisionally named *Acokanthera ouabaïo;* and it is indeed possible, as has been already pointed out, that one of the poison-trees of North Somaliland, from whose wood ARNAUD has separated a crystalline active principle identical with the body we have obtained from the wood of *Acokanthera Schimperi* is *Acokanthera Schimperi*. And, further, arrow-poisons containing this crystalline active principle, are as we have found, used in regions remote from North Somaliland, and where the Somali name *Wăbayo* (BURTON) or *Ouabaïo* (RÉVOIL) is unknown.

On all these grounds we would suggest that, in accordance with a usual custom, the name of *Acokantherin* should be adopted for the crystalline active principle of *Acokanthera Schimperi*, and not « Ouabaïne », the vernacular name for a Somali arrow-poison.

### C.) PHARMACOLOGICAL ACTION.

In the Preliminary Notice of this Paper there was appended a Note making brief mention of some of the observations made upon the action of

those arrow-poisons derived from the *Acokanthera* species, and upon several non-crystalline and crystalline glucosidal substances to which they owe their poisonous action.

The first observations upon the Somali arrow-poison, *wabayo*, were made in 1853 by ARNOTT. He came to the conclusion that the substance was « a very powerful narcotic irritant poison » without « local effect » (15 *b*). About the same time, HAINES made observations of the action of *wabayo* upon the heart and respiration. In the course of experiments upon rabbits he found immediately before death « respiration scarcely perceptible », and upon the occurrence of death « the chest was instantly opened, but there was no movement of the heart whatever » (15 *e*). The occurence of convulsive movements at death seems to have led HAINES to the conclusion that the symptoms « more resemble those produced by nux vomica than by any other agent » (15 *c*). In 1880, an arrow-poison used by the WaNyika and WaKamba tribes of East Equatorial Africa was examined chemically by GERRARD, and a non-crystalline glucosidal substance, to which no name was given, was separated (26).

RINGER found this glucosidal substance to be a powerful muscle-poison which caused death by arresting the heart in systole (26), and thus made the first observation of its digitalis or strophanthus-like action. In 1881, MM. ROCHEBRUNE and ARNAUD separated from the root of an unidentified species of *Acokanthera* from which the Somali prepared an arrow-poison ouabaïo (wăbáyo), a non-crystalline glucosidal substance which they named « ouabaïne ». They found, as stated in the summary of their conclusions, that « 3° Considéré physiologiquement, l'Ouabaïo est un poison du cœur, il agit sur l'organe central de la circulation par l'intermédiaire du système nerveux, en paralysant, selon toute probabilité, les extrémités périphériques des filets cardiaques des nerfs vagues. 4° Son action sur le système musculaire est nulle et de nul effet. 5° Par son action sur le grand sympathique, il provoque la sialorrhée et la mydriase. 6° Administré par les voies digestives, il influe comme émèto-cathartique. »

In 1887, LABORDE examined the physiological action of a WaKamba arrow-poison, obtained from a missionary, M. A. ROY, and stated by him to be composed of parts of eight plants. LABORDE found, as RINGER had done, that the substance was a cardiac poison; but he came to the conclusion that the primary and predominant action was exercised upon the cardio-respiratory centres in the medulla (41 *a*); that the vagus did not take an indispensable part in the action of the poison; and that if there was a sufficient impregnation there was a distinct, but more or less

secondary, local action upon the muscle or nerves of the heart. « C'est donc à un poison agissant primitivement et prédominemment sur les éléments nerveux du centre bulbo-myélitique;.... et le mécanisme de son action, procédant aussi d'une *hyperexcitation* de ces éléments, laquelle a pour expression caractéristique le phénomène convulsion, est un mécanisme *suspensif* de la fonction cardio-respiratoire » (41 *a*).

In 1888, MM. LANGLOIS and VARIGNY found that the Somali arrow-poison *ouabaïo* caused arrest of respiration and of the heart, and this they attributed to paralysis of the medullary centres. « L'action de l'ouabaïo se porte sur les centres d'innervation de la respiration et du cœur, c'est-à-dire sur le bulbe. L'ouabaïo ne nous a paru exercer aucune action sur la sensibilité, la motilité ou les réflexes » (41 *b*). At the same time a brief note (41 *c*) was published by MM. GLEY and RONDEAU, and a more detailed communication (42) by GLEY, upon the action of a crystalline *ouabaïn* separated by ARNAUD from the wood of an unidentified species of *Acokanthera* which formed a source of a Somali arrow-poison.

The latter investigator determined the minimum-lethal dose for several species of animals, and also found that there was a local anæsthetic action upon the cornea, and that the general pharmacological action was similar to that of strophanthin. « Essentiellement, les deux substances agissent sur le système nerveux bulbo-médullaire, comme le prouvent les troubles respiratoires et les vomissements, et sur l'appareil cardio-vasculaire, dont elles exagèrent d'abord (accélération et augmentation d'amplitude des contractions cardiaques et vaso-constriction généralisée), puis dont elles suppriment le fonctionnement (arrêt du cœur). » GLEY also found that, in the frog, the destruction of the spinal cord and medulla did not prevent the arrest of the heart. « Quand le bulbe et la moelle ont été préalablement détruits, la mort du cœur survient dans les mêmes conditions, retardée cependant de quelques minutes, sous l'influence de l'une ou l'autre substance. » In 1891, SAILER, after an extended examination of the actions of a commercial specimen of *ouabaïn* (43), which was found to be very insoluble in water, came to the general conclusion that the cardio-respiratory centres in the medulla are not primarily affected, that asphyxia is a secondary phenomenon, and that the lethal action of the poison is exercised directly upon the heart. In relation to the circulatory system SAILER found that « Ouabaïn causes first, a slowing of the pulse due to a stimulating action upon the cardio-inhibitory function, and perhaps also to a direct action upon the heart-muscle. At the same time there is a primary vaso-motor spasm, due to an action either upon the vaso-

constrictor nerve-fibres or the muscular coats of the vessels. Then there is a sudden and great increase in pulse-rate caused by depression and final paralysis of the vagi, and, at the same time, increase in pressure, due partly to continued stimulation of the vaso-motor system. At last the heart-muscle is paralyzed, and in a few seconds the pressure falls to zero. » In relation to the neuro-muscular system he found : « 1. That it diminishes and finally abolishes reflex action by paralysis of the peripheral sensory nerves, and this paralysis then extends to the sensory nerve-trunk. 2. That it paralyzes the striated muscles by direct action upon their tissue. 3. That it paralyzes the motor nerves only when the action in the body is very prolonged or when a strong solution is applied directly to the nerve. 4. There does not appear to be any action upon the central nervous system. » It was also found to act as an emetic, as a diuretic and to promote defæcation (43). In 1893, LEWIN experimented with an amorphous *ouabaïn* and with extracts obtained from several *Acokanthera* species, and found, generally, that arrest of the heart was produced, that there was a paralysing action upon muscle, and an anæsthetic action upon the cornea (40).

A detailed examination of the pharmacological action of Acokantherin, carried out for the most part in 1889-90 before additional supplies of the wood enabled us to completely identify the substance chemically, has not led to the discovery of any important qualitative differences between it and strophanthin. Since the pharmacology of strophanthin is already very fully known, a less detailed description of most of the experiments made with the alcoholic extract of *Acokanthera Schimperi* wood and with Acokantherin is necessary. As, however, a special interest must be attached to the effects upon the circulation, the experiments on the heart, blood-vessels and blood-pressure will be described with more detail than those upon other systems of the body.

### *a)* GENERAL ACTION.

The relative activity and general effects of the arrow-poison, of the alcoholic extract and crystalline active principle of the wood of *Acokanthera Schimperi*, and of the alcoholic extract and amorphous active principle of the wood of the unidentified species of *Acokanthera*, were ascertained in the following experiments made to determine the minimum-lethal dose by subcutaneous injection for frogs and for rabbits.

TABLE I. — *Minimum-Lethal Dose of Acokantherin for Frogs.*

BY SUBCUTANEOUS INJECTION.

| N° of Experiment | Weight of Animal in grams | Dose in mgr. per gram of Animal | RESULT |
|---|---|---|---|
| 1 | 27,8 | 0.00060 | Death in 2 hours. |
| 2 | 23,2 | 0,00059 | Death in between 4 and 5 hours. |
| 3 | 19,4 | 0,00049 | Death in between 4 and 5 hours. |
| 4 | 25,9 | 0,00049 | Death after 7 and before 20 hours. |
| 5 | 23,1 | 0,00049 | Death in 2 hours. |
| 6 | 25,9 | 0,00039 | Recovery. Slight effect. |
| 7 | 20,9 | 0,00039 | Very little, if any effects. |
| 8 | 20,7 | 0.00029 | Do. |
| 9 | 20,4 | 0,00024 | Do. |

TABLE II. — *Minimum-Lethal Dose of Acokantherin for Rabbits.*

BY SUBCUTANEOUS INJECTION.

| N° of Experiment | Weigt of Animal in grams | Dose in grams per kilogram of Animal | RESULT |
|---|---|---|---|
| 10 | 1786,0 | 0,00070 | Death in 44 minutes. |
| 11 | 1644,0 | 0,00041 | Death in 58 » |
| 12 | 1672,6 | 0,00035 | Death in 65 » |
| 13 | 1332,4 | 0,00028 | Death in 69 » |
| 14 | 907,8 | 0,00028 | Recovery. Death nearly produced. |
| 15 | 1445,8 | 0,00021 | Recovery. Very marked effects. |

TABLE III. — *Minimum-Lethal Dose of Amorphous Active Principle of unidentified species of Acokanthera for Frogs.*

BY SUBCUTANEOUS INJECTION.

| N° of Fxperiment | Weight of Animal in grams | Dose in mgr. per gram of animal | RESULT |
|---|---|---|---|
| 16 | 13,3 | 0,00047 | Recovery. Little, if at all affected. |
| 17 | 34,3 | 0,00047 | Do. do. |
| 18 | 36,2 | 0,00047 | Do. Slightly affected. |
| 19 | 23,3 | 0,00058 | Do. do. |
| 20 | 32,4 | 0,00058 | Do. Distinctly affected. |
| 21 | 22,6 | 0,00069 | Do. do. |
| 22 | 40,8 | 0,00069 | Do. do. |
| 23 | 33,7 | 0,00069 | Do. do. |
| 24 | 34,6 | 0,00073 | Death in 4 hours. |
| 25 | 22,6 | 0,00079 | Death on the 3rd day. |
| 26 | 27,8 | 0,00079 | Recovery. Marked effects. |
| 27 | 31,1 | 0,00079 | Do. Death nearly produced. |
| 28 | 32,4 | 0.00079 | Death in 5 1/2 hours. |
| 29 | 35,6 | 0,00079 | Do. in 6 hours. |
| 30 | 23,6 | 0,00090 | Do. in 3 hours. |
| 31 | 23,7 | 0,00090 | Do. in 3 hours. |
| 32 | 23,3 | 0,00090 | Recovery. Death nearly produced. |
| 33 | 20,7 | 0.00093 | Death in 5 hours. |
| 34 | 17,4 | 0,00098 | Do. in between 2 & 3 hours. |
| 35 | 22,0 | 0,00130 | Do. in between 1 & 2 hours. |

TABLE IV. — *Minimum-Lethal Dose of Amorphous Active Principle of unidentified species of Acokanthera for Rabbits.*

BY SUBCUTANEOUS INJECTION.

| No of Experiment | Weight of Animal in grams | Dose in grams per kilogram of Animal | RESULT |
|---|---|---|---|
| 36 | 1304,7 | 0,00072 | Recovery. Distinct effect. |
| 37 | 1927,7 | 0,00083 | Death in 69 minutes. |
| 38 | 1218,9 | 0,00110 | Death in 45 minutes. |

TABLE V. — *Minimum-Lethal Dose of Alcoholic Extract of Wood of Acokanthera Schimperi for Frogs.*

BY SUBCUTANEOUS INJECTION

| No of Experiment | Weight of Animal in grams | Dose in mgr. per gram of Animal | RESULT |
|---|---|---|---|
| 39 | 27,1 | 0,00092 | Recovery. Little, if any effect. |
| 40 | 27,8 | 0,00150 | Do. do. |
| 41 | 13,6 | 0,00184 | Do. Distinct effects. |
| 42 | 25,2 | 0,00184 | Death before 24 hours. |
| 43 | 17,4 | 0,00276 | Recovery. Marked effects. |
| 44 | 25,9 | 0,00368 | Death in 2 hours. |
| 45 | 17,4 | 0,00460 | Death before 18 hours. |

TABLE VI. — *Lethal Dose of Alcoholic Extract of Wood of Acokanthera Schimperi for Rabbits.*

BY SUBCUTANEOUS INJECTION.

| No of Experiment | Weight of Animal in grams | Dose in grams per kilogram of Animal | RESULT |
|---|---|---|---|
| 46 | 2834,9 | 0,00068 | Recovery. No evident effect. |
| 47 | 2154,5 | 0,00140 | Death in 80 minutes. |

TABLE VII. — *Minimum-Lethal Dose of Alcoholic Extract of Wood of unidentified species of Acokanthera for Rabbits.*

BY SUBCUTANEOUS INJECTION.

| No of Experiment | Weight of Animal in grams | Dose in grams per kilogram of Animal | RESULT |
|---|---|---|---|
| 48 | 1304,7 | 0,00083 | Recovery. Marked effect. |
| 49 | 1474 | 0.00100 | Death in 54 minutes. |
| 50 | 1304,7 | 0,00100 | Death in 61 minutes. |

TABLE VIII. — *Lethal Dose of the WaKamba Arrow-Poison for Frogs.*

BY SUBCUTANEOUS INJECTION.

| No of Experiment | Weight of Animal in grams | Dose in mgr. per gram of Animal | RESULT |
|---|---|---|---|
| 51 | 19,4 | 0,0015 | Recovery. Distinct but slight effect. |
| 52 | 31,7 | 0,0024 | Death in 2 hours. |
| 53 | 25,0 | 0,0033 | Death in between 2 & 3 hours. |

Tables I and II show that for frogs the minimum-lethal dose of Acokantherin (with water of crystallization) by subcutaneous injection is somewhat less than 0.00000049 gram per gram of frog (0.00005 grain per 100 grains), or is in the proportion of 1 of Acokantherin to about 2,040,000 of frog, and for rabbits is about 0.00028 gram per kilogram of rabbit ($^1/_{500}$ to $^1/_{400}$ grain per pound), or is in the proportion of 1 of Acokantherin to 3,570,000 of rabbit.

Acokantherin is more toxic therefore to warm than to cold-blooded animals, the dose being calculated upon the body-weight. This difference is probably due, as is shown later in the description of the general effects of the poison, to the action upon the respiration in warm-blooded animals.

Tables I, II, III and IV also show that the crystalline active principle is more toxic than the amorphous; and Tables V, VI, VII and VIII, that the lethal doses of the WaKamba Arrow-poison, and of the alcoholic extracts of the wood of *Acokanthera Schimperi* and of the unidentified species of *Acokanthera* agree closely.

The general pharmacological effects and the effects upon the heart and skeletal muscle produced by small and by large doses are illustrated in the following experiments.

*Experiment LIV.* — In a rabbit weighing 1720 grams, on the day previous to the experiment the respirations were 10 per 10 sec., when the animal was quite undisturbed, and 22 per 10 sec. when disturbed; the rate of the heart was 38 per 10 sec., and the temperature in the rectum was 37,9° C.

On the following day the respirations were 12 to 22 per 10 sec., according as the animal was undisturbed or disturbed; the rate of the heart was 34 per 10 sec., and the impacts ware regular and of moderate strength. The temperature in the rectum was 37,7° C. Par. 0,2 c.c. of water containing 0,001 gram of Acokantherin, crystallized from water, was injected subcutaneously into the flank; but some loss occured, reducing

the dose to about the minimum-lethal. In 9 minutes, the cardiac impacts were 33, and the respiration 22 per 10 sec. In 16 minutes, the cardiac impacts were 38 and the respirations 30 per 10 sec. Slow and rapid breathing alternated more frequently than before the experiment was begun. In 22 minutes the force of the cardiac impacts was distinctly felt to be increased, and the rate was 28 per 10 sec.; the respirations were 25—30 per 10 sec. In 22 minutes a large quantity of clear urine was very forcibly expelled, and fæces were passed in considerable quantity. The temperature in the rectum was 37,9° C. In 25 minutes the action of the heart was tumultuous and the rate could with difficulty be ascertained; the ears drooped slightly, the back was less arched, slight tremors of the muscles of the cheek and neck occurred, there was perhaps a slight appearance of salivation, and the respiration was laboured. Two minutes later there was marked dyspnœa, the inspiration especially being difficult, and the rate was 10 per 10 sec. The heart movements continued regular and vigorous at the rate of only 17 per 10 sec. Three minutes later the respiration was regular at the rate of 20 per 10 sec., and the lungs were well filled. The cardiac impacts were now 30 per 10 sec., strong and slightly irregular. In 60 minutes the cardiac impacts could not be counted, palpation giving the impression of obscure fluttering movements at an apparent rate of 34 per 10 sec. The respiration was gasping, at the rate of 10 per 10 sec. The head and ears were maintained erect, and the animal showed no very noticeable loss of motor power. Slight tremulous movements of some of the muscles were occasionally seen, but no distinct fibrillary twitchings. In 1 hour 11 min. the respiration, which had meantime recovered, became extremely laboured and shallow, and for a short time was arrested, attempts at inspiration being indicated by snapping movements of the mouth. The cardiac impacts were difficult to count, but appeared to be 20 per 10 sec. In 1 hour 17 min. the respiration was again arrested for a short period, the animal making clicking sounds; but no expansion of the lung took place. The head now occasionally rested on the table, and the rate of the heart movements was apparently still 20 per 10 sec. The same events occured at 1 hour 25 min., but the cardiac impacts seemed to be twice as fast as at the time of the last observation. In 1 hour 30 min. the animal showed little inclination to move, and the head was no longer self-supported. The respirations were abrupt, slightly gasping and shallow, and a clicking sound accompanied the inspiration. The cardiac impacts were regular and fairly strong and the rate was 38 per 10 sec. The temperature in the rectum was 37,6° C. In 1 hour 40 min. the respiratory movements

were very shallow and the rate was 8 per 10 sec. The animal lay prostrate, and, on attempting to sit up, frequent strong tremors of the head occurred. The cardiac impacts were sometimes mere fluttering movements, at other times the beat was strong for a brief period. The rate seemed to vary from 16 to 30 per 10 sec., but it was very difficult to obtain an accurate record. In 1 hour 56 min. the shallow respiration, which, since the last record, had continued at the rate of 7 or 8 per 10 sec., became mere jerks or quiverings of the abdominal muscles at the rate of 5 per 10 sec. The animal lay extended on its side, helpless. No fibrillary muscular twitches were observed. The cardiac impacts were extremely irregular and the heart movements were from time to time, for momentary intervals, no longer to be felt. The temperature in the rectum had fallen to 36,9° C. In 2 hours 4 min. no expansion of the thorax could be observed, but attempts at inspiration were indicated by rhythmic twitching movements of the mouth. The movements of the heart could be only very indistinctly felt, and, a minute later, all movement of the heart had ceased. The cornea was insensitive, but almost no change occurred in the pupils. Two or three slight movements of the limbs occurred, but no convulsions. During the 2 minutes following the arrest of the heart, 13 long drawn gasping inspiratory attempts were made. The temperature in the rectum was 36,2° C.

A healthy rabbit was then killed in order that the reaction of its muscles might be compared with those of the poisoned rabbit.

Seven minutes after death the heart of the animal which had received Acokantherin was exposed. Both the auricles and the ventricles contained blood, and spontaneous movements of both ventricles, at the rate of 5 per 10 sec., occurred. The movements were quite insufficient to maintain life. Slight mechanical stimulation of the auricles had no apparent effect upon them. In 19 minutes after death rapid vermicular movements of both ventricles were occurring. In 39 minutes after death the right ventricle, which had been feebly pulsating at the rate of 3 movements per 10 sec., became motionless. Mechanical stimulation of the heart produced only movement of the right ventricle. In 1 hour 4 min. after death electrical stimulation of the ventricles with a strong induced electric current caused numerous fine fibrillary twitches, but no general contraction of either ventricle. The stimulation of the ventricle, however, caused rhythmic movements of the right auricle, marked peristaltic waves passing from behind forwards at the rate of 4 or 5 per 10 sec., and, 1 hour 24 min. after death, when the observations had to be discontinued, the peristaltic waves of the auricular wall still continued spontaneously. The heart of the

unpoisoned rabbit was at this time stimulated with a strong induced electric current, and a very slight contraction occurred in the right auricle only.

The reaction of the skeletal muscles of the poisoned and of the unpoisoned rabbit to electrical stimulation was tested after death. In 29 min. after death the poisoned gluteal muscles showed the faintest fibrillary twitches when the secondary stood at 270 mm.; and the unpoisoned muscles gave the same reaction with the secondary at 320 mm. In 54 min. after death the poisoned muscles twitched feebly when the secondary was at 120 mm., and the amount of movement was increased but little on strengthening the current; but the unpoisoned muscles easily reacted with the same strength of current (secondary 120 mm.), and the amount of movement was much increased when the current was strengthened. In 1 hour 4 min. after death the full strength of the current caused only an almost imperceptible twitch when applied to the freshly exposed poisoned muscles, but the unpoisoned muscles contracted very strongly. In 1 hour 19 min. the full strength of the current applied to the poisoned muscles was without effect, but caused strong contractions of the muscles of the unpoisoned rabbit.

*Experiment LV.* — In a rabbit weighing 1332 grams the respirations were 21, and the cardiac impacts 45 per 10 sec. 0,0004 gram of Acokantherin dissolved in 0,3 c.c. of water was injected subcutaneously. In 22 min. the respirations were 20 per 10 sec. and were rather shallow; and the cardiac impacts were 39 per 10 sec. The eyes were kept closed occasionally, and there were some grinding movements of the teeth. In 27 min. the respirations became gasping and were suddenly reduced to 6 per 10 sec., but meantime, the cardiac impacts seemed regular and strong at the rate of 20 per 10 sec. Two minutes later the respirations had increased to 23 per 10 sec., and the expansion of the thorax was good. In 31 min. the respiration was strongly dyspnœic, the mouth gaping at inspiration, and the rate had fallen to 6 per 10 sec. The cardiac impacts were 24 per 10 sec., and were strong and occasionally slightly irregular. In 42 min. the respiration, for the third time since the last note (31 min.), became extremely shallow, with gasping inspiratory attempts, and the rate fell to 3 per 10 sec., but gradually quickened to 11 per 10 sec. The cardiac impacts were 29 per 10 sec., slightly irregular, but distinctly weaker than before. Several drops of saliva fell from the mouth. The animal still sat erect. In 45 min. there was distinct salivation, the animal assumed a crouching attitude, muscular tremors affected the whole body, the head

being especially tremulous. The respirations were laboured, but expansion seemed good, and the cardiac impacts, which were rather feeble, were at the rate of 35 per 10 sec. In 49 min. the animal had sunk prostrate and could no longer sit up; general muscular tremors rendered it difficult to estimate the rate of the cardiac impacts, which seemed to be 34 per 10 sec.; and the respirations were 13 per 10 sec. In 56 min. the animal made an effort to raise its head, but failed, and the limbs lay outstretched and powerless; the respirations had fallen to 6 per 10 sec. and were gasping and shallow; and the cardiac impacts were 18 per 10 sec., regular and of fair strength. In 61 min. the respirations were only 3 per 10 sec. and the expansion of the lung was very slight, but the cardiac impacts continued at 20 per 10 sec., with but few irregularities. In 63 min. the respiration, except for a few twitching movements of the nose and mouth, had ceased, and several slight general spasms occurred. The heart continued to beat feebly and irregularly for 6 min. after the total cessation of respiration. Eight minutes after the cardiac impacts could no longer be felt the heart was exposed. Slight irregular contractions of the right ventricle were present and it contained 4 c.c. of dark-coloured blood. The left ventricle was arrested in systole, but the muscle did not feel hard; it contained only a few drops of bright-coloured blood. Eighteen minutes after the heart movements could no longer be felt and 24 min. after the arrest of the respiration the sciatic nerve and the muscles of the trunk and extremities gave no reaction on stimulation with a strong interrupted electrical current.

*Experiment LVI.* — In a rabbit weighing 2296 grams the respirations were 24 and the cardiac impacts 37 per 10 sec. 0,004 gram of Acokantherin dissolved in 1 c.c. of water was injected subcutaneously into the right flank. In 7 min. the animal showed considerable uneasiness, and defæcated. In 9 min. there were chewing movements; the respirations were irregular, sometimes 15 and sometimes 23 per 10 sec.; and there was the appearance on the abdominal walls of strong peristaltic movements, and defæcation continued. In 12 min. the cardiac impacts were forcible, but the rate was only 7 per 10 sec.; the respiration was occasionally arrested and when present was shallow and laboured at the rate of 10 per 10 sec.; marked and coarse muscular twitching was occurring near the seat of injection. In 20 min. the respiration was still laboured, the expiration being abrupt and noisy; the cardiac impacts were still forcible and the rate had increased to 13 per 10 sec., and was occasionally irregular. In 27 min. the heart could not be felt, or only a fluttering movement was perceived; the animal's head was sinking to the ground; and the respiration was

shallow and gasping at the rate of 10 per 10 sec. The animal could still run, and urine had been passed. In 42 min. the heart appeared to have greatly quickened, the rate being 32 per 10 sec.; but the respiration remained very laboured and shallow at the rate of 6 per 10 sec. In 45 min. the animal could with great difficulty assume the erect position for a brief period, but could not raise the head from the ground for more than a second, and soon fell in a state of collapse, and the heart could not be felt to move. Three minutes later several sharp general convulsive movements occurred, the eye was found to be insensible, there were numerous coarse muscular tremors, intestinal peristalsis was indicated by the movements of the abdominal wall, and respiratory twitching movements of the nose continued for a few seconds. The pupils contracted slightly before death, dilated at death, and subsequently contracted.

Six minutes after death the heart was exposed and found to be arrested in moderate diastole. Ten minutes after death the heart was stimulated mechanically without apparent effect. Fifteen minutes after death the heart was stimulated by a powerful interrupted electric current without any effect beyond the occurrence of extremely fine fibrillary twitching on the surface. The muscles of the thigh contracted with the secondary at 150 mm., but, on stimulating the sciatic nerve a minute or two later no reaction could be obtained with the full force of the current. Thirty-five minutes after death the muscles did not respond to strong electrical stimulation, and a considerable amount of rigidity had set in. Fifteen minutes later the rigidity was very marked, and, on placing litmus paper in incisions made into freshly exposed muscles on the opposite side of the body to where the injection was made it was found that the reaction was strongly acid, blue litmus paper becoming red, and red litmus paper remaining unchanged.

**Summary of General Effects in Rabbits.**

After the subcutaneous administration of a small lethal dose death usually results in from 60 to 80 minutes.

Motor power is gradually impaired and is usually so much reduced that before death occurs the animal lies prostrate and powerless, and only a few feeble muscular movements indicate the arrest of the heart or respiration. When the dose is relatively large, or when the poison acts with unusual rapidity, the heart or respiration is arrested before general motor depression has set in, and sharp convulsive movements occur at death.

The respiration is rendered irregular and is often slow, shallow and

abrupt. Severe dyspnœic attacks occur from time to time, and not unfrequently early in the experiment, so that death from asphyxia seems impending at a time when the cardiac impacts are forcible and the animal is able to move about freely. This marked respiratory difficulty was not found to occur in several experiments where tracheotomy had been performed.

At an early period the cardiac impacts are usually felt to be more forcibie and slower; and just before death the rate is usually slow, but sometimes nearly as rapid as at the beginning of the experiment. Often the rate of the heart movements is estimated with difficulty by palpation on account of frequent tremors of the thoracic muscles.

It is often difficult to say whether the cardiac or the respiratory movements cease first. Usually, respiratory efforts continue for a brief period after the heart can no longer be felt to pulsate, and, in these cases, on *post-mortem* examination, the bright red colour of the left auricle and of the pulmonary veins contrasts strongly with the dark colour of the right auricle and of the venæ cavæ. Although respiratory movements may occur after the arrest of the heart, they are feeble, and the respirations which occur during the few minutes before the heart ceases to beat are often too feeble to sustain life.

A similar difficulty is encountered in the case of the heart. Sometimes cardiac movements occur after the respiration has finally ceased, but immediate *post-mortem* examination reveals that these pulsations are mere irregular movements altogether insufficient to sustain life; and movements of such a character, therefore, do not indicate that arrest of respiration was the primary cause of death.

During most of the experiments the bladder and bowels were evacuated. Towards the close of the experiments the pupils became very slightly contracted, and dilated greatly at death.

Where doses somewhat larger than the precise minimum-lethal are employed, the lethal action is primarily upon the heart; the left ventricle is found, on examination immediately after death, to be contracted and empty or nearly empty, and the right ventricle and the auricles to contain blood. The heart may show spontaneous quivering movements, and, for a brief period, may respond to stimulation; but most frequently the heart is motionless, and does not respond to mechanical or electrical stimulation. After death, the motor nerves rapidly lose all influence over the muscles, and, in a very brief period thereafter, the muscles become inexcitable, and early acquire an acid reaction and become rigid.

With the smallest lethal doses of Acokantherin death seems (Exp[t]. LIV) to result from failure of the respiration as well as from failure of the heart. After death, the heart may exhibit spontaneous movements and respond for a considerable time to mechanical and electrical stimulation. The motor nerves and the skeletal muscles may also retain their irritability for a considerable period, although they usually become paralysed before the nerves and muscles of an unpoisoned animal which has been dead for the same length of time, and rigidity sets in early.

### Summary of General Effects in Frogs.

In frogs the lethal action is primarily upon the heart, and some of the other effects are secondary to the failure of the circulation. The prominent effects which follow the administration of lethal, especially large lethal doses are : — some tonic contraction of muscles; slowing and intermittence of the respiration; gaping of the mouth, often accompanied with straining movements like those of vomiting; fibrillary twitching of muscles, especially at and near the seat of injection; impairment of motor power and of co-ordination; disappearance of the cardiac impact; cessation of respiration a considerable time after the arrest of the heart; and gradual enfeeblement and loss of reflex and voluntary movement.

On opening the thorax, the heart is found motionless, the ventricle in extreme systole, the auricles distended with blood, and the whole heart inexcitable to mechanical or electrical stimulation. Immediately after death, stimulation of a motor nerve causes muscular contraction; but, much sooner than in a dead unpoisoned animal, the muscles cease to respond to stimulation of the nerves or to direct irritation, and become acid in reaction and rigid. When, however, the precise minimum-lethal dose has been administered, the whole heart is found to have been arrested in extreme diastole, and it responds to stimulation for some time; but the ventricle soon becomes rigidly contracted if the stimulation is repeated. The motor nerves and muscles also retain their irritability for a considerable time, but become paralysed long before unpoisoned nerves and muscles.

In experiments with the alcoholic extract of the wood of *Acokanthera Schimperi* effects quite similar to those produced by Acokantherin were obtained. The alcoholic extract of the unidentified species of *Acokanthera* and its amorphous active principle also produced in both rabbits and frogs effects similar to those produced by Acokantherin.

### b) Action on the cerebro-spinal nervous system.

**Brain and Spinal Cord.**

It is very doubtful if doses of Acokantherin, considerably larger than the minimum-lethal (0,0003 gram), can be conveyed to the spinal cord by injecting the dose subcutaneously, as the heart is so soon arrested that the whole dose is probably not absorbed and circulated. But when one part of the body is protected and this dose is conveyed to the spinal cord by injection into the aorta, or when the dose is locally applied to the exposed spinal cord, there is at first brief central irritation, shown by muscular twitchings and jerky movements of protected and unprotected parts, followed after a few minutes by paralysis of the reflex centres, stimulation of the unpoisoned or poisoned skin ceasing to cause any reflex movement. For a brief period thereafter spontaneous movements due to local irritation of the motor centres may continue, and motor conduction to direct stimulation of the cord is retained for some time later.

In frogs, the administration by subcutaneous injection of small doses of Acokantherin causes the reflexes to disappear at a late period and usually at the same time in protected and in unprotected parts. The arrest of the circulation is the cause of the ultimate disappearance of the reflexes. The power of conducting efferent impulses is retained by the spinal cord after the loss of reflex power; and the muscles are not paralysed until a considerable time after the functions of the cord have been entirely abolished.

**Sensory nerves.**

Where large doses of Acokantherin are employed by subcutaneous injection, the reflexes obtained by stimulating the skin of an unprotected part are impaired and abolished before the reflexes obtained by stimulating the skin of a protected part. This is due to a paralysing action on the sensory nerve-endings, very marked in the neighbourhood of the injection; for, if the injection be made into one lower extremity of a frog, the blood-vessels of that extremity being ligatured, stimulation of the skin of the ligatured extremity gradually ceases to produce any reflex effect. Owing to the arrest of the circulation in the ligatured extremity the diffusion of the poison is slow; but, within an hour, although stimulation of the poisoned skin fails to cause any reflex, stimulation of the nerve-trunk in the poisoned extremity still causes active movement of the opposite limb.

The application to the cornea of the rabbit of a watery solution of

Acokantherin causes local anæsthesia, as had been observed by Gley with crystalline Ouabaïn. After the application of 0,00065 gram in 0,2 c.c. of water, there is first a slight temporary congestion of the conjunctiva, which remains more or less sensitive. The pupil contracts to the extent of from one-half to two-thirds of its original size, but this is recovered from before the local anæsthesia. The local anæsthesia is complete in about twenty minutes and lasts for about five hours.

### Motor nerves.

Fibrillary twitching of muscles is very distinct in frogs which have been poisoned by the subcutaneous injection of a large dose of Acokantherin.

A dose of 10 times the minimum-lethal causes frequent and marked fibrillary twitchings in the locality of injection, which usually do not extend to distant parts.

A dose of 30 times the minimum-lethal causes marked muscular twitching at the seat of injection and also general twitching, although less marked.

The muscular twitching is solely due to a local action of Acokantherin, since, in the frog, it does not appear in one lower extremity which is protected by ligature of the blood-vessels and tissues, the sciatic nerve being intact, but appears in the unprotected muscles whether the nerve-trunks be intact or previously divided.

The local action which causes the twitching is upon the endings of motor nerves, and is not a reflex action through the sensory nerves or an action upon muscular fibre. This was proved by pithing a frog, ligaturing the tissues and vessels of one lower extremity and dividing the sciatic nerve on that side. The frog was then paralysed by injecting curarine subcutaneously. On then injecting subcutaneously 0,1 c.c. of solution containing about 0,00015 gram of Acokantherin into the protected (non-curarised) extremity, frequent and marked muscular twitchings set in, usually by 15 minutes, whereas the same dose injected subcutaneously into the curarised extremity caused no muscular twitchings. The same results were obtained, without any risk of diffusion, when the experiment was made on the amputated lower extremities of a frog, curarine being injected subcutaneously into one extremity and then Acokantherin injected into both, as soon as stimulation of the nerve-trunk of the curarised extremity showed that its motor nerve-ends were paralysed. The motor-paralysis is due to paralysis of muscle, but it is difficult to determine whether at a remote period in the poisoning the terminations of motor-nerves are not

weakened or paralysed, because, at the time when stimulation of the motor-nerve fails to cause contraction of muscle, the muscle itself is found, on direct stimulation, to show signs of paralysis.

*c)* ACTION ON SKELETAL MUSCLES.

When, in the frog, relatively large doses of the poison are administered subcutaneously the heart movements are rapidly arrested and the heart muscle very soon thereafter absolutely fails to respond to electrical stimulation, and becomes acid in reaction. Owing to the early arrest of the heart, probably only a small part of the dose can reach the skeletal muscles which are therefore comparatively slowly affected. When minimum-lethal doses are employed, doses which are so small that several hours elapse before the heart is arrested, the skeletal muscles still show, at a later period, marked signs of poisoning, and fail to respond to direct electrical stimulation long before the unpoisoned muscles in a frog, whose circulation has been artificially arrested, fail to do so.

*Experiment LVII.* — To a frog weighing 56 grams about twice the minimum-lethal dose was administered subcutaneously at 12,40 p. m., after one leg had been protected by ligature of the vessels and tissues, except the sciatic nerve. The heart was arrested at 1,59 p. m. By 2,42 p. m. the breathing had become irregular, the mouth gaping widely with long periods of apnœa. Irregular respiratory movements continued till 3,30 p. m. The reflexes disappeared at 3,52 p. m., having remained apparently equal in both legs. Until 5,30 p. m. the sciatic nerves of the protected and unprotected legs responded to stimulation with about the same strength of current. (Protected nerve, secondary at 370 mm.; unprotected nerve, secondary at 350 mm. Du Bois-Reymond's induction-coil, and a Daniell's cell.) On testing the nerves again at 10 p. m. muscular contraction distinctly followed stimulation of the protected sciatic with secondary at 220 mm., whereas, on the unprotected side, no effect was produced by the full strength of the current applied to the nerve or directly applied to the muscles.

When the chemical reaction of the muscles of frogs poisoned by Acokantherin is taken at the time when, or soon after, their contractility is lost, it is usually found that blue litmus is reddened but red litmus is still rendered blue; the acidity of the muscle, however, soon increases, and the muscle becomes rigid. In the same frog, muscles effectually protected by the ligature of all the tissues of one lower extremity, except the sciatic nerve, or by the amputation of one leg before the poisoning,

retain their contractility many hours after the poisoned muscles have become rigid.

The effect is more rapid and marked as the dose of Acokantherin is increased. When about 10 times the minimum-lethal dose is injected into the aorta of a frog, the lower extremities being protected by ligature of the tissues, marked twitchings occur in the unprotected muscles, which are completely paralysed to stimulation of nerves or to direct stimulation in about an hour, the protected muscles still readily responding to stimulation of the sciatic nerve.

*d)* ACTION ON THE HEART, BLOOD-VESSELS AND GENERAL CIRCULATION.

The description of the general action of Acokantherin on rabbits and on frogs has shown that the effects upon the heart are very pronounced.

In the frog, a large dose of Acokantherin injected subcutaneously or applied locally to the heart causes arrest of the ventricle in systole within twenty minutes. The minimum-lethal dose may cause arrest of the ventricle in diastole after several hours, but subsequently the ventricle becomes contracted. The lymph-hearts are not arrested until some time after the blood-heart.

After the administration of small doses of Acokantherin there is, before the arrest of the heart, a period of progressive slowing, the slowing being due to a great lengthening of the diastolic pause. During this period of slowing the action of the heart is perfect, its cavities being well filled with blood and the contractions of auricles and ventricles regular and powerful.

After the administration of large doses of Acokantherin, irregular and unequal contraction of parts of the ventricle often occur, the amount of systolic contraction increases and diastolic expansion lessens, and the ventricle becomes arrested in extreme systolic contraction. The auricles contract usually for a brief period longer, but without, as a rule, succeeding in forcing blood into the closed ventricle, and they become arrested in a distended state.

When the heart is brought to arrest in complete diastole by a minimum-lethal dose of Acokantherin, its condition is apparently not influenced by atropine, proving that the stoppage in diastole is independent of the inhibitory action of the vagus or of the cardio-inhibitory ganglia.

*Experiment LVIII.* — Weight of frog 21,3 grams. Brain destroyed. 0,02 mgr. of Acokantherin applied to the heart, and, subsequently, atropine.

| | Rate of Heart's contractions per 60 sec. | |
|---|---|---|
| 12 h. 1′ | | Heart exposed. Action regular and vigorous. Cavities well filled. |
| 12 h. 8′ | 40 | 0,02 mgr. of Acokantherin in 0,2 c.c. distilled water injected subcutaneously into left lower extremity. |
| 1 h. 30′ | 40 | |
| 2 h. 0′ | 36 | One part of the ventricle occasionally is dilated while the remainder is contracted. |
| 3 h. 5′ | 24 | Diastolic waves pass from apex to base of ventricle. |
| 4 h. 0′ | 16 | The diastolic pause has lengthened greatly, the ventricular systole is very powerful and complete, the muscle becoming extremely pale. |
| 4 h. 30′ | 3 | The diastolic pause is greatly lengthened. |
| 4 h. 35′-4 h. 45′ | 1 in 40 sec.<br>1 » 85 »<br>1 » 30 »<br>1 » 90 »<br>1 » 80 »<br>1 » 150 » | During the long periods of quiescence both auricles and ventricles are greatly distended with blood. |
| 4 h. 53′ | | 7 consecutive, rapid contractions were followed by complete diastolic arrest for a period of 10 minutes.<br>Slight pressure upon the dilated heart caused 14 powerful contractions to occur in 45 sec., followed by diastolic arrest for a period of 11 minutes. |
| 5 h. 16′ | | 2 drops of a 2 per cent. solution of sulphate of atropine applied to the dilated heart without any effect. This quantity of atropine causes paralysis of inhibition lasting for hours. |
| 5 h. 38′ | | During the last 30 min. the heart has remained motionless, but the ventricle has imperceptibly passed from full diastole into medium systole. Mechanical stimulation of the heart causes no movement. When blood is forced into the ventricle retraction occurs when the pressure is removed and continues permanently. |

The inhibitory action of the vagus nerve on the heart is however apparently increased by Acokantherin, stimuli which are not strong enough to arrest the heart through the vagus nerve before poisoning doing so after poisoning.

The increased effect of stimulation of the vagus nerve in the frog is not due to an action of the poison upon the vagus nerve centre or cardio-inhibitory ganglia but to the independent action of the poison upon the motor ganglia or muscle of the heart, or upon both, whereby the heart constantly tends, before the action on the muscle is profound, to come to diastolic arrest.

Slowing of the heart, with occasional spontaneous and final complete

stoppage in diastole is also observed readily when the vagus action is prevented by the administration of atropine.

*Experiment LIX.* — Weight of frog 29,1 grams. Brain and spinal cord destroyed at 11,30 a.m., and left vagus exposed. 0,039 mgr. of Acokantherin applied to the heart.

| p. m. | Rate of Heart's contractions per 15 sec. | Strength of induction current-Secondary. | |
|---|---|---|---|
| 4 h. | 8 | 100 mm. | Arrest of heart for 10 sec. |
| 4 h. 20' | 7 | 80 » | » » 10 sec. |
| 4 h. 25' | 7 | 120 » | No effect. |
| 4 h. 40' | 7 | 90 mm. | Slight slowing. |
| 4 h. 50' | 7 | 80 » | Slight slowing. |
| 4 h. 55' | 6 | | 0,027 mgr. of Acokantherin in 0,06 c.c. distilled water applied to the heart. |
| 5 h. 0' | 5 | 120 » | Very faint effect. |
| 5 h. 5' | | | 0,006 mgr. of Acokantherin applied to the heart. |
| 5 h. 15' | 5 | 100 » | Momentary arrest of heart. 0,006 mgr. of Acokantherin applied to the heart. |
| 5 h. 20' | 5 | 100 » | Momentary arrest of heart. |
| 5 h. 35' | 5 | 80 » | Arrest of heart for 35 sec. |
| | 5 | 120 » | » » 30 sec. |
| 5 h. 40' | | | Spontaneous arrest of the heart in full diastole for 120 sec. |
| 5 h. 45' | | | Occasional spontaneous arrest of the heart for long periods. Application of several drops of a 2 per cent. solution of atropine to the heart causes no movement; but stimulation of the vagus caused 2 or 3 ventricular contractions. |
| 5 h. 50' | | | The ventricle is gradually passing from diastole into systole. |

In another experiment an injection of 0,00003 gram of Acokantherin was made at 4 p. m. At this time a Faradic current, secondary at 60 mm., slowed the heart just to the point of stoppage. (Previous rate 12 per 15 sec.). By 50 minutes a current of 120 mm. slowed the heart (previous rate 10 per 15 sec.) distinctly, and a current of 85 mm. easily brought it to a standstill. By 55 minutes the heart, however, showed a tendency to stop spontaneously for a second or two in diastole (rate 9 per 15 sec.). By 60 minutes the auricles occasionally gave 2 beats to one beat of the ventricle. By 80 minutes a current of 150 mm. easily arrested the heart, but 10 minutes later the heart spontaneously stopped in diastole.

When the inhibitory influence of the vagus and cardio-inhibitory ganglia is removed by the administration of atropine the subsequent

administration of a minimum-lethal dose of Acokantherin causes arrest of the heart, after several hours, in full diastole. The accelerator action of the vagus is retained until the ventricle spontaneously comes to a standstill.

The dilated ventricle readily passes into systolic arrest when it is mechanically stimulated.

*Experiment LX.* — Weight of frog 34 grams. Brain destroyed on day previous to the experiment. Heart and left vagus nerve exposed. 0.025 mgr. of Acokantherin in 0,3 cc. of distilled water applied to the heart in successive small doses.

| a. m. | Rate of Heart's contractions per 60 sec. | |
|---|---|---|
| 11 h. 0′ | | Heart and vagus nerve exposed. |
| 11 h. 50′ | 40 | Contractions regular and vigorous; cavities well filled. |
| | | Induction current, secondary at 80 mm., applied to vagus nerve readily caused arrest of the heart during and for a few seconds after the stimulation. |
| 12 h. 0′ | | 0,6 c.c. of a 2 per cent solution of sulphate of atropine applied to the heart. |
| p. m. | | |
| 12 h. 5′ | | Induction current, secondary at 80 mm., applied to the vagus nerve causes slight acceleration of the rate of the heart. |
| 12 h. 12′ | 40 | 0,25 c.c. of solution of Acokantherin (= 4/5 of total amount used) applied in small drops during the last 5 minutes. |
| 2 h. 15′ | 12 | Great lengthening of the diastolic pause, the systole and diastole being, relatively to the length of the pause, of short duration; the systolic contraction powerful. |
| 3 h. 5′ | 12 | The condition unchanged since last observation. About 0,02 c.c. of solution of Acokantherin applied to the heart. Induction current, secondary at 80 mm., applied to the vagus nerve quickens the heart's contractions from 3 per 15 sec. to 9 per 15 sec. |
| 3 h. 55′ | 12 | About 0,02 c.c. solution of Acokantherin applied to the heart. |
| 4 h. 20′ | 12 | Condition of heart unchanged since 2,15 p. m. |
| 4 h. 50′ | 12 | 0,06 c.c. of a 2 per cent. solution of atropine sulphate applied to the heart without any change of rate occurring. |
| 5 h. 30′ | 12 | During the diastolic pause the heart is greatly distended with blood. |
| 6 h. 10′ | | Arrest during 2 minutes, the heart in extreme diastole. |
| 6 h. 15′ | | Contractions of the heart occuring at irregular intervals at the rate of from 2 to 8 beats per 60 sec. The auricles continue to contract at the rate of 10 per 60 sec., although the ventricle is arrested in full diastole. |
| 6 h. 25′ | | The heart during the last 10 minutes has been motionless in extreme diastole, the cavities being very full of blood. Stimulation of the vagus, secondary at 80 mm., caused 5 successive contractions of the heart, the ventricle becoming very small and pale during the systole, but dilating again completely. |

6 h. 30′ During successive periods of 30 sec. spontaneous contractions occurred at the rate of 2, 2, 2, 3, 3, 2, 2, 2, 0, 0, 1, 0. 0,06 c.c. of a 2 per cent. atropine sulphate solution caused no change of rate. An induction current, secondary at 50 mm., applied to the vagus always increases the rate of the auricular contractions, but the contractions of the ventricle only sometimes quicken to 5 per 15 seconds.

6 h. 40′ The ventricle has stopped in diastole, but the auricles continue to contract slowly and feebly. An induction current, secondary at 50 mm., applied to the vagus caused the rate of the auricular contractions to increase from 1 per 15 sec. to 8 per 15 sec., but during the stimulation the ventricle remained dilated. After several stimulations of the vagus the ventricle contracted powerfully 2 or 3 times at irregular intervals, and came to rest in diastole. A strong induced current, secondary at 0 mm., applied to the vagus greatly increases the rate of the auricular contractions, to 9 per 15 sec., but the ventricle usually contracted only once at the beginning of each stimulation and remained during the contractions of the auricle in a dilated state. Occasionally a spontaneous contraction occurred.

7 h. 5′ 10 successive mechanical stimulations of the dilated and motionless ventricle caused 10 single contractions, but the amount of diastolic expansion after each contraction became less, and the ventricle finally became blanched and rigidly contracted and remained in this condition. Neither strong electrical stimulation of the vagus or stimulation of the heart produced any further change.

*Experiment LXI.* — Weight of frog 25,9 grams. 0,023 mgr. of Acokantherin in about 0,25 c.c. of distilled water injected subcutaneously and solution of sulphate of atropine subsequently applied. Heart exposed.

| p. m. | Rate of Heart's contractions per 60 sec. | |
|---|---|---|
| 1 h. 25′ | 36 | Action regular and vigorous, cavities well filled. |
| 1 h. 40′ | | 0,25 c.c. of distilled water containing 0,023 mgr. of Acokantherin in solution injected subcutaneously into left leg. |
| 2 h. 0′ | 32 | 3 drops of a 2 per cent. solution of sulphate of atropine applied to the heart. |
| 3 h. 10′ | 20 | 1 drop of the atropine solution applied to the heart. |
| 3 h. 20′ | 12 | An occasional abortive systolic contraction. |
| 3 h. 25′ | 28 | Occasionally several ventricular contractions quickly follow one another, the systole being very complete, and then a pause in complete diastole occurs for a few seconds. |
| 3 h. 30′ | 24 | An occasional lengthening of the diastolic pause. |
| 3 h. 50′ | 20 | Action of the heart quite regular. |

| p. m. | Rate of Heart's contractions per 10 sec. | |
|---|---|---|
| 4 h. 25′ | 16 | Slowing of the rate of the heart, due to a lengthening of the diastolic pause. |
| 5 h. 50′ | 12 | Do. do. |
| 5 h. 51′ | | Spontaneous arrest of the heart in full diastole during 4 minutes, both auricles and ventricle being much distended with blood, followed by 2 spontaneous contractions of the whole heart. |
| 6 h. 0′ | | 1 drop of the atropine solution applied to the heart. |
| 6 h. 5′ | | 44 consecutive contractions of the whole heart followed by arrest of the whole heart in complete diastole for 20 minutes. Both auricles and ventricle large and full of blood. |
| 6 h. 25′ | | 18 consecutive spontaneous contractions during 70 sec., the contractions regular and powerful, the ventricle becoming blanched and the cavity obliterated. |
| 6 h. 29′ | | 9 spontaneous contractions during 20 sec. followed by arrest in full diastole for 20 minutes. |
| 6 h. 35′ | | 9 spontaneous contractions during 30 sec. followed by arrest in full diastole for 20 minutes, the heart being much dilated. |
| 6 h. 55′ | | During the diastolic arrest, touching the auricles slightly with a glass rod caused 11 contractions of the whole heart during 25 sec. followed by arrest in diastole. |
| 10 h. 15′ | | The heart not observed since 7 p. m. The size of the heart distinctly reduced. On pricking the auricle slightly 13 regular contractions of the whole heart followed. Slight stimulation of the auricles or of the ventricle causes usually a single contraction. The heart comes to rest in diastole. |
| | | The following morning the heart was found motionless, the auricles dilated, the ventricles contracted. Stimulation of the ventricle with an induction current caused a slight contraction of the left auricle, but no movement of the ventricle. |

When the heart is arrested by administering a large dose of Acokantherin, and the inhibitory action of the vagus is suspended by means of atropine, stimulation of the vagus-trunk causes an accelerator action which continues until the muscle of the heart is strongly affected by the poison.

*Experiment LXII.* — Weight of frog 30,4 grams. Brain destroyed and left vagus nerve exposed. About 0,0001 gram of Acokantherin in a drop of distilled water applied to the heart, and subsequently sulphate of atropine solution.

| p. m. | Rate of Heart's contractions per 15 sec. | |
|---|---|---|
| 5 h. 25′ | 10 | |
| 5 h. 35′ | 1 | During stimulation of the vagus trunk with induction current, secondary at 40 mm. |

| | Rate of Heart's contractions per 15 sec. | |
|---|---|---|
| 5 h. 40' | 10 | |
| 5 h. 41' | 0 | Do. do. |
| 5 h. 42' | | 2 drops of a 2 per cent. solution of atropine sulphate in distilled water applied to the heart. |
| 5 h. 45' | 0 | |
| 5 h. 46' | 14 | During stimulation of the vagus trunk with the same strength of current as at 5,35 p. m. |
| 6 h. 0' | 8 | One drop of distilled water containing about 0,0001 gram of Acokantherin applied to the heart. |
| 6 h. 5' | 7 | |
| 6 h. 10' | 6 | |
| 6 h 11' | 12 | During stimulation of the vagus trunk with the same strength of current as at 5.35 p. m. |
| 6 h. 15' | 6 | |
| 6 h. 20' | Auricle 6 | |
| | Ventricle 3 | |
| 6 h. 22' | Auricle 6 | |
| | Ventricle 2 | |
| 6 h. 25' | Auricle 5 | |
| | Ventricle 0 | The ventricle remained motionless in semi-diastole during 60 sec., when the vagus trunk was stimulated with the same strength of current as at 5,35 p. m. The ventricle then resumed 168 contractions and the rate of the heart's contractions increased to 9 per 15 sec. Contractions continued for 75 sec., the rate gradually slowing, and stoppage occurred in semi-diastole; mechanical stimulations of the ventricle cause slight contractions. |

6 h. 45' Ventricle in moderate systole. Electrical and mechanical stimulation of the ventricle produces no movement of the ventricle, but strong stimulation of the auricle causes slight contraction of the auricle. The vagus has no action.

On the following day the ventricle was very small, pale (except posteriorly) and the muscle was acid in reaction.

**Action on blood-vessels.**

The action of Acokantherin upon blood-vessels was tested by means of perfusion experiments made upon frogs whose brain and spinal cord had been completely destroyed at periods of from 1 to 3 hours before the experiment was begun.

The Acokantherin was dissolved in a 0,75 per cent. solution of sodium chloride. Several of the experiments were repeated at different periods of the year under different conditions of temperature, as stated in the case of each experiment.

Experiments were also made at the same time, under the same

conditions, with a specimen of pure digitalin (Merck) in powder, which dissolved readily in the saline solution.

The perfusion apparatus consisted of three reservoirs, one containing normal saline solution, one a solution of Acokantherin in saline, and the third, a solution of digitalin in saline. The carefully filtered fluid was kept at a nearly constant height of 19 cm. above the frog (except in Experiment LXVI where the height was 14 cm.) by means of Marriott's flasks. The glass tube passing from each reservoir was connected by means of a securely clipped indiarubber tube, filled with saline solution only, with a four-limbed glass canula, the fourth limb being securely fastened into the frog's aorta. After the venae cavae had been divided, the blood was washed out of the vessels by loosening the clip on the tube leading to the reservoir containing saline solution only; and then the fluid which flowed from the divided venae cavae was received into a graduated measure and the amount noted during each minute for from 10 to 20 minutes, and, if the flow continued nearly constant, the experiment was continued by substituting the Acokantherin or digitalin solutions for the saline solution.

Some experiments with the saline solution alone were also made, in order to establish a standard. The frogs were weighed before and after each experiment.

A considerable amount of muscular twitching occurred during the experiments which were made with the stronger solutions of Acokantherin.

It was found that the saline solution could be passed through the blood-vessels for an hour and a half, without the amount of outflow being reduced to more than one-third.

This is illustrated in the following experiment.

*Experiment LXIII.* — Normal saline alone (Plate V). Temp. 11,1° C.

| Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,9 | 18 | 1,7 | 35 | 1,5 | 52 | 1,3 | 69 | 1,1 | 86 | 1,0 |
| 2 | 1,7 | 19 | 1,7 | 36 | 1,5 | 53 | 1,2 | 70 | 1,0 | 87 | 1,0 |
| 3 | 1,8 | 20 | 1,7 | 37 | 1,5 | 54 | 1,2 | 71 | 1,0 | 88 | 1,1 |
| 4 | 1,8 | 21 | 1,6 | 38 | 1,5 | 55 | 1,0 | 72 | 1,1 | 89 | 1,1 |
| 5 | 1.8 | 22 | 1,7 | 39 | 1,4 | 56 | 1,1 | 73 | 1,0 | 90 | 1,1 |
| 6 | 1,9 | 23 | 1,6 | 40 | 1,5 | 57 | 1,1 | 74 | 1,15 | 91 | 1,1 |
| 7 | 1,8 | 24 | 1,4 | 41 | 1,3 | 58 | 1,0 | 75 | 1,0 | 92 | 1,1 |
| 8 | 1,7 | 25 | 1,5 | 42 | 1,4 | 59 | 1,1 | 76 | 1,0 | 93 | 1,1 |
| 9 | 1,6 | 26 | 1,6 | 43 | 1,3 | 60 | 1,1 | 77 | 1,0 | 94 | 1,1 |
| 10 | 1,7 | 27 | 1,5 | 44 | 1,3 | 61 | 1,0 | 78 | 1,0 | 95 | 1,1 |
| 11 | 1,8 | 28 | 1 5 | 45 | 1,3 | 62 | 1,1 | 79 | 1,0 | 96 | 1,0 |
| 12 | 1,8 | 29 | 1,5 | 46 | 1,4 | 63 | 1,0 | 80 | 1,0 | 97 | 1,0 |
| 13 | 1,7 | 30 | 1.4 | 47 | 1,2 | 64 | 1,0 | 81 | 1,0 | 98 | 1.1 |
| 14 | 1,7 | 31 | 1.4 | 48 | 1,3 | 65 | 1,0 | 82 | 1,1 | 99 | 1,1 |
| 15 | 1,7 | 32 | 1,5 | 49 | 1,2 | 66 | 1,1 | 83 | 1,0 | 100 | 1,1 |
| 16 | 1,7 | 33 | 1,5 | 50 | 1,2 | 67 | 1,0 | 84 | 1,0 | | |
| 17 | 1,7 | 34 | 1,5 | 51 | 1,2 | 68 | 1,0 | 85 | 1,0 | | |

Before the experiment the frog weighed 26,5 grams, and after the experiment it weighed 30,5 grams.

*Experiment LXIV.* — Normal saline followed in 25 minutes by solution of Acokantherin in saline, 1 : 100,000, and 35 minutes afterwards by digitalin in saline, 1 : 50,000 (Plate V). Temp. 16,1° C.

| Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,4 | | 20 | 1,5 | | 35 | 1,4 | | 53 | 1,7 | | 68 | 1,8 | |
| 2 | 1,4 | | 21 | 1,5 | | 36 | 1,3 | | 54 | 1,7 | | 69 | 1,7 | |
| 3 | 1,4 | | 22 | 1,6 | Saline. | 37 | 1,4 | | 55 | 1,7 | | 70 | 1,7 | |
| 4 | 1,4 | | 23 | 1,4 | | 38 | 1,4 | | 56 | 1,8 | Acokantherin. | 71 | 1,4 | |
| 5 | 1,4 | | 24 | 1,4 | | 39 | 1,45 | | 57 | 1,95 | | 72 | 1,15 | |
| 6 | 1,4 | | 25 | 1,4 | | 40 | 1,6 | | 58 | 1,95 | | 73 | 0,95 | |
| 7 | 1,4 | | Acokantherin solution turned on. | | | 41 | 1,5 | | 59 | 1,95 | | 74 | 0,7 | |
| 8 | 1,4 | | | | | 42 | 1,6 | | Digitalin solution turned on | | | 75 | 0,6 | |
| 9 | 1,4 | Saline. | | | | 43 | 1,6 | Acokantherin. | | | | 76 | 0,5 | Digitalin. |
| 10 | 1,4 | | 26 | 1,5 | | 44 | 1,7 | | | | | 77 | 0,4 | |
| 11 | 1,4 | | 27 | 1,4 | | 45 | 1,6 | | 60 | 2,0 | | 78 | 0,3 | |
| 11 | 1,4 | | 28 | 1,5 | | 46 | 1,6 | | 61 | 2,0 | | 79 | 0,2 | |
| 13 | 1,4 | | 29 | 1,4 | | 47 | 1,7 | | 62 | 2,0 | | 80 | 0,15 | |
| 15 | 1,4 | | 30 | 1,5 | Acokantherin. | 48 | 1,6 | | 63 | 2,2 | Digitalin. | 81 | 0,1 | |
| 16 | 1,4 | | 31 | 1,45 | | 49 | 1,5 | | 64 | 2,2 | | 82 | 0,1 | |
| 17 | 1,4 | | 32 | 1,4 | | 50 | 1,7 | | 65 | 2,1 | | 83 | 0,05 | |
| 18 | 1,4 | | 33 | 1,3 | | 51 | 1,8 | | 66 | 2,0 | | | | |
| 19 | 1,4 | | 34 | 1,4 | | 52 | 1,7 | | 67 | 2,0 | | | | |

The frog, before the experiment, weighed 31,7 grams, and after the experiment it weighed 38,8 grams. During the 33 min. in which the 1 : 100,000 solution of Acokantherin flowed, the vessels dilated one-third, but, when the 1 : 50,000 solution of digitalin passed, the outflow fell to one-twentieth in 20 min., and had practically ceased.

*Experiment LXV.* — Normal saline followed in 11 min. by solution of Acokantherin 1 : 50,000, and 1 hour afterwards by solution o digitalin 1 : 50,000 (Plate V). Temp. 11.6° C.

| Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3,0 | | 20 | 2,5 | | 42 | 2,8 | | 64 | 2,8 | | 83 | 1,6 | |
| 2 | 2,9 | | 21 | 2,6 | | 43 | 3,0 | | 65 | 2,8 | | 84 | 1,5 | |
| 3 | 2,8 | | 22 | 2,6 | | 44 | 2,9 | | 66 | 2,75 | | 85 | 1,3 | |
| 4 | 2,7 | | 23 | 2,5 | | 45 | — | | 67 | 2,85 | Acokantherin. | 86 | 0,9 | |
| 5 | 2,8 | | 24 | 2,5 | | 46 | — | | 68 | 2,85 | | 87 | 0,9 | |
| 6 | 2,8 | Saline. | 25 | 2,6 | | 47 | — | | 69 | 2,7 | | 88 | 0,8 | |
| 7 | 2,8 | | 26 | 2,6 | | 48 | — | | 70 | 2,8 | | 89 | 0,6 | |
| 8 | 2,7 | | 27 | 2,6 | | 49 | — | | 71 | 2,8 | | 90 | 0,5 | |
| 9 | 2,7 | | 28 | 2,5 | | 50 | 2,8 | | Digitalin solution turned on. | | | 91 | 0,4 | Digitalin. |
| 10 | 2,6 | | 29 | 2,6 | | 51 | 2,8 | | | | | 92 | 0,35 | |
| 11 | 2,6 | | 30 | 2,6 | Acokantherin. | 52 | 2,8 | Acokantherin. | | | | 93 | 0,3 | |
| Acokantherin solution turned on. | | | 31 | 2,7 | | 53 | 2,8 | | 72 | 2,9 | | 94 | 0,3 | |
| | | | 32 | 2,7 | | 54 | 2,9 | | 73 | 2,8 | | 95 | 0,2 | |
| | | | 33 | 2,7 | | 55 | 2,9 | | 74 | 2,6 | | 96 | 0,2 | |
| 12 | 2,6 | | 34 | 2,7 | | 56 | 2,8 | | 75 | 2,5 | | 97 | 0.2 | |
| 13 | 2,6 | | 35 | 2,7 | | 57 | 2,8 | | 76 | 2,4 | | 98 | 0,1 | |
| 14 | 2,6 | | 36 | 2,8 | | 58 | 2,9 | | 77 | 2.4 | Digitalin. | 99 | 0,1 | |
| 15 | 2,5 | Acokantherin. | 37 | 2,8 | | 59 | 2,8 | | 78 | 2,3 | | 100 | 0,1 | |
| 16 | 2,6 | | 38 | 2,7 | | 60 | 2,8 | | 79 | 2,2 | | | | |
| 17 | 2,6 | | 39 | 2,7 | | 61 | 2,8 | | 80 | 2,0 | | | | |
| 18 | 2,6 | | 40 | 2,8 | | 62 | 2,7 | | 81 | 2,0 | | | | |
| 19 | 2,5 | | 41 | 2,8 | | 63 | 2,8 | | 82 | 1,7 | | | | |

The frog weighed 35 grams before the experiment, and 46,1 grams after the experiment. During 1 hour the 1 : 50,000 solution of Acokantherin continued to flow with the result that a slight increase in the calibre of the blood-vessels occurred, as in Experiment LXIV; when a solution of digitalin, also of the strength 1 : 50,000, was next allowed to pass, the outflow was reduced by one-half in 14 minutes, and to a twenty-eighth in 27 minutes, the blood-vessels being then nearly occluded.

*Experiment LXVI.* — Normal saline followed by solution of Acokantherin 1 : 50,000 (Plate V). Temp. 20° C.

| Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,6 | Acokantherin solution turned on. | | 18 | 1,6 | 28 | 1,75 | 38 | 1,7 |
| 2 | 1,7 | | | 19 | 1,6 | 29 | 1,78 | 39 | 1,6 |
| 3 | 1,6 | 10 | 1,7 | 20 | 1,65 | 30 | 1,65 | 40 | 1,6 |
| 4 | 1,7 | 11 | 1,7 | 21 | 1,65 | 31 | 1,6 | 41 | 1,6 |
| 5 | 1,7 | 12 | 1,7 | 22 | 1.7 | 32 | 1,6 | 42 | 1,6 |
| 6 | 1,7 | 13 | 1,7 | 23 | 1,75 | 33 | 1,65 | 43 | 1,6 |
| 7 | 1,7 | 14 | 1,7 | 24 | 1,75 | 34 | 1,7 | 44 | 1,6 |
| 8 | 1,7 | 15 | 1,65 | 25 | 1,6 | 35 | 1,7 | 45 | 1.55 |
| 9 | 1,8 | 16 | 1,6 | 26 | — | 36 | 1,7 | | |
| | | 17 | 1,6 | 27 | 1,75 | 37 | 1,7 | | |
| | Saline. | | Acokantherin. | | Acokantherin. | | Acokantherin. | | Acokantherin. |

The frog weighed 31,7 grams before the experiment. During 35 min. the 1 : 50,000 solution of Acokantherin produced almost no change in the calibre of the blood-vessels; whereas, as is shown in Experiment LXXI, 1 : 50,000 solution of digitalin in saline causes, within a shorter period of time, complete occlusion of the blood-vessels.

The experiment was continued for 40 min. with saline solution alone, the flow at the end of the 40 min. being 1,4 cc., or only slightly less than when the Acokantherin solution was stopped. On then turning on 1 : 50,000 solution of digitalin in saline the blood-vessels were nearly occluded (outflow 0,05 cc.) in 25 minutes. At the conclusion of the experiment the frog weighed 40,1 grams.

*Experiment LXVII.* — Normal saline followed by solution of Acokantherin in saline 1 : 20,000 (Plate V). Temp. 14,4° C.

| Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2,1 | | Acokantherin solution turned on. | | | 27 | 2,0 | | 41 | 1,95 | |
| 2 | 2,2 | | | | | 28 | 1,9 | | 42 | 1,95 | |
| 3 | 2,0 | | 15 | 2,0 | | 29 | 2,0 | | 43 | 1,95 | |
| 4 | 2,1 | | 16 | 2,0 | | 30 | 1,9 | | 44 | 2,0 | |
| 5 | 2,0 | | 17 | 2,0 | | 31 | 2,0 | | 45 | 2,0 | |
| 6 | 2,0 | | 18 | 1,9 | | 32 | 2,0 | | 46 | 2,0 | |
| 7 | 2,0 | | 19 | 2,0 | | 33 | 1,95 | | 47 | 2,0 | |
| 8 | 2,0 | Saline. | 20 | 1,8 | Acokantherin. | 34 | 2,0 | Acokantherin. | 48 | 2,0 | Acokantherin. |
| 9 | 2,0 | | 21 | 1,9 | | 35 | 2,1 | | 49 | 2,0 | |
| 10 | 2,0 | | 22 | 1,9 | | 36 | 2,0 | | 50 | 2,0 | |
| 11 | 2,0 | | 23 | 2,0 | | 37 | 2,1 | | 51 | 2,0 | |
| 12 | 2,0 | | 24 | 2,1 | | 38 | 1,95 | | 52 | 1,9 | |
| 13 | 1,9 | | 25 | 2,1 | | 39 | 1,95 | | 53 | 2,0 | |
| 14 | 1,9 | | 26 | 2,0 | | 40 | 2,1 | | 54 | 1,9 | |
| | | | | | | | | | 55 | 1,9 | |

The frog weighed 35 grams before the experiment, and 48,2 grams after the experiment.

The solution of 1 : 20,000 of Acokantherin produced no effect on the blood-vessels in 40 min., and this result may be compared with that obtained on circulating solution of digitalin 1 : 100,000 (Expt. LXX, Plate V), when, during a similar period of time, great contraction of the blood-vessels occurred.

*Experiment LXVIII.* — Normal saline followed by solution of Acokantherin in saline 1 : 10,000, and, 55 minutes afterwards, by solution of digitalin in saline 1 : 50,000 (Plate V). Temp. 15° C.

| Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2,3 | | 23 | 2,8 | | 48 | 2,6 | | Digitalin solution turned on. | | |
| 2 | 2,3 | | 24 | 2,8 | | 49 | 2,6 | | 72 | 2,3 | |
| 3 | 2,3 | | 25 | 2,7 | | 50 | 2,5 | | 73 | 2,3 | |
| 4 | 2,3 | | 26 | 2,7 | | 51 | 2,6 | | 74 | 2,2 | |
| 5 | 2,3 | | 27 | 2,8 | | 52 | 2,4 | | 75 | 2,2 | |
| 6 | 2,3 | | 28 | 2,8 | | 53 | 2,4 | | 76 | 1,9 | |
| 7 | 2,3 | | 29 | 2,7 | | 54 | 2,3 | | 77 | 1,8 | |
| 8 | 2,4 | | 30 | 2,7 | | 55 | — | | 78 | 1,6 | |
| 9 | 2,5 | Saline. | 31 | 2,7 | | 56 | 2,3 | | 79 | 1,4 | |
| 10 | 2,5 | | 32 | 2,7 | | 57 | 2,3 | | 80 | 1,2 | |
| 11 | 2,5 | | 33 | 2,7 | | 58 | — | | 81 | 1,2 | Digitalin. |
| 12 | 2,5 | | 34 | 2,6 | Acokantherin. | 59 | 2,1 | Acokantherin. | 82 | 0,9 | |
| 13 | 2,5 | | 35 | 2,5 | | 60 | 2,2 | | 83 | 0,6 | |
| 14 | 2,5 | | 36 | 2,6 | | 61 | 2,2 | | 84 | 0,6 | |
| 15 | 2,5 | | 37 | 2,6 | | 62 | 2,1 | | 85 | 0,5 | |
| 16 | 2,5 | | 38 | 2,6 | | 63 | 2,1 | | 86 | 0,4 | |
| Acokantherin solution turned on. | | | 39 | 2,6 | | 64 | 2,2 | | 87 | 0,2 | |
| | | | 40 | 2,6 | | 65 | 2,2 | | 88 | 0,2 | |
| | | | 41 | — | | 66 | 2,3 | | 89 | 0,15 | |
| 17 | 2,5 | | 42 | — | | 67 | 2,4 | | 90 | 0,1 | |
| 18 | 2,7 | | 43 | 2,7 | | 68 | 2,3 | | 91 | 0,05 | |
| 19 | 2,7 | Acokanther. | 44 | 2,8 | | 69 | 2,2 | | | | |
| 20 | 2,6 | | 45 | — | | 70 | 2,2 | | | | |
| 21 | 2,8 | | 46 | 2,7 | | 71 | 2,3 | | | | |
| 22 | 2,7 | | 47 | 2,5 | | | | | | | |

Before the experiment the frog weighed 35,6 grams, and after the experiment it weighed 40,8 grams, the oedema being moderate.

The solution of 1 : 10,000 of Acokantherin at first produced slight dilation of the blood-vessels, and, after the flow of Acokantherin solution had continued for 55 min., the reduction in the calibre of the vessels amounted only to about one-thirteenth; but when digitalin solution, 1 : 50,000, was substituted for the solution of Acokantherin the reduction in the calibre of the blood-vessels amounted to more than one-half in 11 minutes, and the blood-vessels were practically occluded within 20 min., the outflow being 0,05 c.c. per minute.

*Experiment LXIX.* — Normal saline solution followed by solution of Acokantherin in saline 1 : 5,000, and, 36 min. afterwards, by solution of digitalin in saline 1 : 50,000 (Plate V). Temp. 22,4° C.

| Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | — | Acokantherin solution turned on. | | 29 | 2,0 | 44 | 1,7 | 56 | 1,4 |
| 2 | — | | | 30 | 2,1 | 45 | 1,8 | 57 | 1,2 |
| 3 | — | 16 | 2,3 | 31 | 1,9 | 46 | 1,8 | 58 | 0,9 |
| 4 | — | 17 | 2,3 | 32 | 1,9 | 47 | 1,7 | 59 | 0,8 |
| 5 | — | 18 | 2,3 | 33 | 2,0 | 48 | 1,8 Acokantherin. | 60 | 0,4 |
| 6 | 2,1 | 19 | 2,2 | 34 | 1,9 | 49 | 1,7 | 61 | 0,3 |
| 7 | 2,2 | 20 | 2,2 | 35 | 1,9 | 50 | 1,7 | 62 | 0,3 |
| 8 | 2,2 Saline. | 21 | 2,1 Acokantherin. | 36 | 1,9 Acokantherin. | 51 | 1,7 | 63 | 0,2 Digitalin. |
| 9 | 2,3 | 22 | 2,0 | 37 | 1,9 | Digitalin solution turned on. | | 64 | 0,2 |
| 10 | 2,4 | 23 | 2,1 | 38 | 1,9 | | | 65 | 0,15 |
| 11 | 2,3 | 24 | 2,2 | 39 | 1,9 | | | 66 | 0,15 |
| 12 | 2,3 | 25 | 2,1 | 40 | 1,9 | 52 | 1,6 | 67 | 0,15 |
| 13 | 2,3 | 26 | 2,0 | 41 | 1,8 | 53 | 1,5 Digitalin. | 68 | 0,15 |
| 14 | 2,4 | 27 | 2,1 | 42 | 1,8 | 54 | 1,6 | 69 | 0,1 |
| 15 | 2,5 | 28 | 2,1 | 43 | 1,8 | 55 | 1,5 | | |

The frog weighed 13 grams before, and 18,5 grams after the experiment.

In 36 min. the solution of 1 : 5000 of Acokantherin produced only a gradual diminution of one-fourth in the amount of outflow; but, when solution of digitalin 1 : 50,000 was allowed to pass, the outflow diminished to one-half in 8 min., and to one-sixteenth in 18 min.

*Experiment LXX.* — Normal saline followed by solution of digitalin in saline 1 : 100,000 (Plate V). Temp. 17,7° C.

| Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,9 | Digitalin solution turned on. | | 27 | 1,65 | 41 | 0,7 | 55 | 0,3 |
| 2 | 1,9 | | | 28 | 1,65 | 42 | 0,7 | 56 | 0,2 |
| 3 | 1,9 | 15 | 1,9 | 29 | 1,65 | 43 | 0,6 | 57 | 0 2 |
| 4 | 1,9 | 16 | 1,9 | 30 | 1,55 | 44 | 0,6 | 58 | 0,2 |
| 5 | 1,9 | 17 | 1,9 | 31 | 1,4 | 45 | 0,5 | 59 | 0,2 Digitalin. |
| 6 | 1,9 | 18 | 1,9 | 32 | 1,3 | 46 | 0,5 | 60 | 0,2 |
| 7 | 1,9 Saline. | 19 | 1,9 | 33 | 1,3 | 47 | 0,5 | 61 | 0.2 |
| 8 | 1,9 | 20 | 1,9 Digitalin. | 34 | 1,3 Digitalin. | 48 | 0,4 Digitalin. | 62 | 0,2 |
| 9 | 1,9 | 21 | 1,9 | 35 | — | 49 | 0,4 | 63 | 0,1 |
| 10 | 1,9 | 22 | 1,9 | 36 | 1,1 | 50 | 0,3 | | |
| 11 | 1,9 | 23 | 1,9 | 37 | 1,0 | 51 | 0,3 | | |
| 12 | 1,9 | 24 | 1,8 | 38 | 0,9 | 52 | 0,3 | | |
| 13 | 1,8 | 25 | 1,8 | 39 | 0,9 | 53 | 0,3 | | |
| 14 | 1,8 | 26 | 1,65 | 40 | — | 54 | 0,3 | | |

The frog weighed 16 grams before, and 23 grams after the experiment. After normal saline had flowed for 14 min. without producing any change, 1 : 100,000 solution of digitalin was allowed to pass, and it produced no change during 11 min.; but, in 24 min., the outflow had fallen to one-half, and, in 40 min., had fallen to one-ninth.

*Experiment LXXI.* — Normal saline followed by solution of digitalin in saline 1 : 50,000 (Plate V). Temp. 14,4° C.

| Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. | Time in minutes | Flow per min. in c.c. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,8 | 12 | 1,6 | Digitalin solution turned on. | | 32 | 0,9 | 41 | 0,1 |
| 2 | 1,7 | 13 | 1.5 | | | 33 | 0,7 | 42 | 0,1 Digitalin. |
| 3 | — | 14 | 1,5 | 23 | 1,5 | 34 | 0,7 | 43 | 0,1 |
| 4 | — | 15 | 1,5 | 24 | — | 35 | 0,4 | 44 | 0,05 |
| 5 | 1,8 | 16 | 1,5 | 25 | 1,4 | 36 | 0,3 Digitalin. | 45 | 0,05 |
| 6 | 1,6 Saline. | 17 | 1,5 Saline. | 26 | 1,5 | 37 | 0,3 | | |
| 7 | 1,6 | 18 | 1,5 | 27 | 1,4 Digitalin. | 38 | 0,2 | | |
| 8 | 1,6 | 19 | 1,4 | 28 | 1,4 | 39 | 0,2 | | |
| 9 | 1,6 | 20 | 1,4 | 29 | 1,2 | 40 | 0,1 | | |
| 10 | — | 21 | 1,4 | 30 | 1,1 | | | | |
| 11 | 1,5 | 22 | 1,5 | 31 | 1,0 | | | | |

The weight of the frog before the experiment was 20,5 grams.

After the saline solution had flowed for 22 min. with very slight change occurring, 1 : 50,000 solution of digitalin reduced the outflow to one-half in 10 min., and to one-fifteenth in 18 minutes.

It would therefore appear from these experiments that dilute solutions of Acokantherin of from 1 : 100,000 to 1 : 10,000 do not produce in frogs contraction of the blood-vessels; and, with even so strong a solution of Acokantherin as 1 : 5,000 the contraction is slight, if indeed any is

produced, the curve (Experiment LXIX, Plate V), being similar to that obtained by the circulation of normal saline solution alone (Experiment LXIII, Plate V).

The contrast between the action of Acokantherin and digitalin is very marked, and it is shown in Experiments LXXIV and LXIX (1 : 100,000); in Experiments LXV, LXVI and LXXI (1 : 50,000); and in Experiments LXVIII (Acokantherin 1 : 10,000; Digitalin 1 : 50,000) and LXIX (Acokantherin 1 : 5,000; Digitalin 1 : 50,000). A solution of digitalin, 1 : 50,000 (Experiment LXXI), rapidly reduces and arrests the flow through the blood-vessels, whereas a solution of Acokantherin ten times stronger (Experiment LXIX) produces little effect.

This difference in action upon the blood-vessels is much accentuated by the fact that the lethal power in frogs of the digitalin used in these experiments is only about $^1/_{50}$ of that of Acokantherin.

**Blood-Pressure Experiments.**

Blood-pressure experiments were made by one of us in Professor Boehm's laboratory in the University of Leipzig (1) in 1891 with a specimen of Acokantherin which had not been so completely purified as that used in the chemical analysis and in the greater number of the other pharmacological experiments.

In all the experiments the canula was connected with one of the carotid arteries, and the injections of solutions of the substances in water were made into the external jugular vein.

Four of these experiments are described. In the first experiment (Experiment LXXII) Acokantherin was administered alone; in the second and third experiments (Experiments LXXIII and LXXIV) a hypnotic dose of urethane was administered at the commencement of the experiment, the motor nerves were kept paralysed by the administration of small doses of pure curarine (Boehm), artificial respiration was maintained, and during the experiment the vagi were divided; in the fourth experiment (Experiment LXXV) the conditions were the same as in the second and third (Experiments LXXIII and LXXIV) except that the vagi were not divided and that sulphate of atropine was administered at intervals.

The most important of the changes that occurred are illustrated in the portions of the Tracings reproduced in Plate VI.

*Experiment LXXII.* — Weight of rabbit 1570 grams. 0,000248 gram of Acokantherin administered in six divided doses. Natural respiration.

(1) Permission was refused to perform the experiments in Great Britain.

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. | | | Pulse rate per | | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Maximum | Minimum | Average | 10 sec. | 60 sec. | | |
| 4 h. 58′ 5″ | | 94 | 86 | 90 | 36 | 216 | 1 | Pulse-movements 0,5 mm.; regular. Respiration-waves well marked, regular. |
| 5 h. 37′ 10″ | | 104 | 96 | 100 | 35 | 210 | 2 | Do., do. The first injection had been lost, but perhaps a small quantity had entered the vein. Pulse-movements 1 mm. |
| 5 h. 38′ 0″ | I. Acokantherin 0,000062 | 108 | 96 | 102 | 34 | 204 | | Pulse-movements very large (12 to 24 mm.). This condition continued for 3 min. and gradually passed into that |
| 5 h. 42′ 0″ | | 132 | 80 | 106 | 13 | 78 | 3 | represented in Tracing No. 4. Great increase in the maximum blood-pressure and great lowering of the minimum. Pulse very slow. |
| 5 h. 43′ 15″ | | 128 | 90 | 109 | 24 | 144 | 4 | The large pulse-movements have become fewer and the Tracing shows at intervals the original character of the pulse. The maximum blood-pressure still considerably increased and the minimum lowered. |
| 5 h. 44′ 0″ | II. Acokantherin 0,000031 | 124 | 88 | 106 | 23 | 138 | | Do., do. |
| 5 h. 47′ 0″ | | 110 | 86 | 98 | 16 | 96 | 5 | Reappearance of the large pulse-movements. Two and a half min. after the second injection of Acokantherin the whole of the pulse-movements had become very large (6 to 10 mm.) and this condition continued for 6 min. Pulse-rate very slow. |
| 5 h. 50′ 30″ | | 100 | 84 | 92 | 17 | 102 | 6 | Pulse-movements still continue very large. During the next 5 min. the size and rate of the pulse-movements had returned to that found at the commencement of the experiment. |
| 5 h. 55′ 0″ | III. Acokantherin 0,000031 | 94 | 90 | 92 | 37 | 222 | | Characters of pulse-movements at the beginning of the third injection of Acokantherin shown in Tracing No. 7, resemble original characters before first administration. |
| 5 h. 57′ 50″ | | 94 | 88 | 91 | 35 | 210 | 7 | Do., do. |
| 5 h. 59′ 0″ | IV. Acokantherin 0,000062 | 92 | 88 | 90 | 35 | 210 | | Pulse as in Tracing No. 7. |
| 6 h. 2′ 30″ | | 120 | 80 | 100 | 20 | 120 | 8 | Tracing taken 2 1/2 min. after injection IV. Large pulse-movements had occurred by the time that the injection, which occupied 1 min., was completed; but the pulse remained irregular, with the exception of short intervals when it became regular, as shown in Tracing No. 9. Respiration irregular. |
| 6 h. 4′ 30″ | | 120 | 96 | 108 | 19 | 114 | 9 | The large regular pulse-movements shown in this tracing alternate at irregular intervals with those shown in Tracing No. 10. Blood-pressure raised. |

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood pressure mm. | | | Pulse rate per | | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Maximum | Minimum | Average | 10 sec. | 60 sec. | | |
| 6 h. 8' 30" | | 118 | 98 | 108 | 19 | 114 | 10 | Small and large pulse-movements irregular. |
| 6 h. 9' 0" | V. Acokantherin 0,000031 | 120 | 98 | 109 | 19 | 114 | | Do., do. |
| 6 h. 13' 0" | VI. Acokantherin 0,000031 | 100 | 90 | 95 | 22 | 132 | | Do., do. |
| 6 h. 14' 30" | | 98 | 80 | 89 | 16 | 96 | 11 | Blood-pressure fallen. The pulse-movements at this point became extremely small or imperceptible, and the blood-pressure sank steadily. The heart ceased acting 4 1/2 min. later. |

In this experiment the average blood-pressure remained unaffected for long periods, although the greatly increased vertical height of each pulse-curve indicated a great increase in the force of the ventricular contraction.

After each injection the pulse-movements usually became extremely large and slow (Tracings Nos. 3, 5 and 6) and the maximum blood-pressure rose slightly. The same level of the blood-pressure was maintained (Tracing No. 7) when the pulse-movements were small and rapid. The maximum blood-pressure was highest (Tracing No. 3) when the minimum blood-pressure was lowest and the pulse-movements were largest. The average blood-pressure was highest (Tracing No. 9) when the pulse-movements, although large, were smaller and more rapid than is shown in Tracings Nos. 3 and 5, but the difference in pressure was small in amount.

The effect of each of the first four injections upon the rate of the pulse, as well as upon the extent of the pulse-movements, was very striking, the maximum reduction in rate, as shown in Tracing No. 3, being from 204 to 78 pulsations per minute. After the fourth injection the pulse-rate became permanently slower than at the commencement of the experiment, and at no time was the pulse-rate observed to be quicker than when the experiment began.

After the fifth and sixth injections the pulse became irregular (Tracing No. 11) and the blood-pressure fell steadily until the heart ceased to contract. The respiration was laboured and irregular during the time that Tracing No. 8 was taken.

*Experiment LXXIII.* — Weight of rabbit 1220 grams. 2,2 grams of urethane administered by the stomach an hour before the experiment. A

motor paralysing dose of curarine was administered at the commencement of the experiment, and artificial respiration was maintained to the end. A single dose of Acokantherin was administered by slow injection into the jugular vein.

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. | | | Pulse rate per | | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Maximum | Minimum | Average | 10 sec. | 60 sec. | | |
| 12 h. 21′ 0″ | | | | | | | | Tracing begun. |
| 12 h. 21′ 30″ | | 112 | 108 | 110 | 41 | 246 | 1 | Pulse-movements small and regular. |
| 12 h. 23′ 40″ | Curarine 0.001 | 116 | 110 | 113 | 42 | 252 | | 0.001 gram of curarine dissolved in 1 c.c. of water slowly injected during 5 min. into the jugular vein. Artificial respiration commenced. |
| 12 h. 28′ 40″ | | 100 | 96 | 98 | 41 | 246 | | Injection of solution of curarine completed. Blood-pressure has fallen, but recovered within two minutes. |
| 12 h. 33′ 50″ | Acokantherin 0.000125 | 116 | 110 | 113 | 38 | 228 | 2 | Tracing at commencement of injection of Acokantherin. 0.000125 gram dissolved in 0.5 c.c. of water. The injection occupied 2 minutes. |
| 12 h. 35′ 50″ | | 116 | 110 | 113 | 35 | 210 | 3 | Injection of Acokantherin completed. Blood-pressure unchanged. Pulse-rate slightly reduced. |
| 12 h. 37′ 10″ | | 130 | 124 | 127 | 34 | 204 | 4 | Tracing taken 80 sec. after the completion of injection of Acokantherin. Blood-pressure steadily rising. Pulse-rate unchanged, but the extent of the pulse-movement is distinctly increased by one-half. |
| 12 h. 39′ 40″ | | 156 | 150 | 153 | 33 | 198 | 5 | Very marked rise in the blood-pressure with little change in the pulse-rate. |
| 12 h. 40′ 50″ | | 146 | 106 | 126 | 33 | 198 | 6 | Since 12 h. 39′ 40″ exaggerated diastolic and systolic movements have appeared irregularly, as shown in the first part of Tracing No. 6. The blood-pressure rapidly fell and the pulse-movements became large and slow; but the pulse, within 2 min. later, became extremely irregular, as shown in Tracing No. 7, and the blood-pressure fell nearly to zero, and the heart subsequently very slowly recovered, as shown in Tracing No. 8. |
| 12 h. 41′ 0″ | | 112 | 90 | 101 | 18 | 108 | | |
| 12 h. 43′ 5″ | | 72 | 20 | 4′ | | | 7 | At intervals the heart's action became extremely feeble, or the heart ceased to act and the blood-pressure fell rapidly; several vigorous contractions then occurred, the blood-pressure rose rapidly and the pulse-movements became visible. Gradual recovery of the heart's action then took place. |

In this experiment, where a single large dose was employed, the blood-pressure was rapidly and distinctly affected, the average rising within four

minutes from 113 mm. to 153 mm. Failure of the action of the heart set in 5 min. after the injection of Acokantherin, and the blood-pressure then sank.

The pulse-movements increased in extent after the injection, but failure of the action of the heart occurred at the period when a notable increase in the size of the pulsations was apparently commencing.

The rate of the pulse diminished slightly after the injection; but, when the blood-pressure was highest (12 h. 39′40″), the pulse-rate remained almost unchanged, and the fall of the blood-pressure and the slowing and irregularity of the heart coincided.

*Experiment LXXIV.* — Weight of rabbit 1,500 grams. 2,0 grams of urethane administered by the stomach at 3,30 p. m. Experiment commenced at 4,39 p. m. A total of 0,002 gram of curarine administered by intra-venous injection in three divided doses, and artificial respiration maintained throughout the experiment. Acokantherin was administered in 14 divided doses during 1 hour 52 minutes; total dose 0,00025 gram in 5 c.c. distilled water. Vagi divided during experiment.

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. | | | Pulse rate per | | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Maximum | Minimum | Average | 10 sec. | 60 sec. | | |
| 4 h. 42′ 0″ | | 100 | 92 | 96 | 39 | 234 | 1 | Regular tracing. Respiration-waves well marked. Pulse-movements about 1 mm. |
| 4 h. 43′ 0″ | I. Curarine 0,001 | | | | | | | Artificial respiration begun, and curarine injected. During 5 min. following the injection of curarine no change occurred in the level of the blood-pressure; but the pulse-movements increased slightly in size (see Tracing No. 2). |
| 4 h. 48′ 30″ | | 102 | 92 | 97 | 31 | 186 | | |
| 4 h. 50′ 10″ | I. Acokantherin 0,0000125 | 100 | 90 | 95 | 31 | 186 | | |
| 4 h. 50′ 15″ | | 100 | 90 | 95 | 31 | 186 | 2 | Tracing at the beginning of first Acokantherin injection shows the characters mentioned in second note. |
| 4 h. 56′ 0″ | II Acokantherin 0,0000125 | 104 | 80 | 92 | 37 | 162 | | During the six min. intervening between the first and second injections the pulse-movements increased, and at the end of each artificial respiratory wave a large diastolic fall (10 mm.) and an equally large systolic rise frequently occurred. |
| 4 h. 57′ 40″ | | 108 | 78 | 93 | 25 | 150 | 3 | Pulse-movements show more frequent intermissions with exaggerated diastole and systole. |
| 5 h. 0′ 0″ | III. Acokantherin 0,0000125 | 104 | 80 | 92 | 25 | 150 | | Do., do. |
| 5 h. 5′ 0″ | IV. Acokantherin 0,0000125 | 106 | 86 | 96 | 25 | 150 | | Do., do.; but within 1 min. after the injection the pulse had the characters shown in Tracing No. 4. |

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. Maximum | Blood-pressure mm. Minimum | Blood-pressure mm. Average | Pulse rate per 10 sec. | Pulse rate per 60 sec. | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 h. 10′ 40″ | | 108 | 86 | 97 | 20 | 120 | 4 | Pulse-movements large (3 to 10 mm.) and regular. This condition continued until the vagi were cut. Level of blood-pressure unchanged since the commencement of the experiment; but pulse-rate reduced by about one-half. |
| 5 h. 12′ 0″ | V. Acokantherin 0,0000125 | | | | | | | Do., do. |
| 5 h. 15′ 40″ | | 118 | 94 | 106 | 17 | 102 | 5 | Steady increase in the size of the pulse-movements (4 to 11 mm.) which continue regular. Blood-pressure steadily rising. |
| 5 h. 20′ 0″ | | 120<br>122 | 94<br>114 | 107<br>118 | 18<br>28 | 108<br>168 | 6 | Do., do. Both vagi divided in the neck. Immediate diminution in the rate of the pulse-movements and increase in the blood-pressure. |
| 5 h. 21′ 0″ | | 144 | 138 | 141 | 30 | 180 | 7 | Steady increase in blood-pressure and in the rate of the pulse. The character shown in Tracing No. 7 continued for 1 min. 40 sec. and gradually passed into the type shown in Tracing No. 8. |
| 5 h. 23′ 40″ | | 140 | 128 | 134 | 30 | 180 | 8 | Blood-pressure continues high. An exaggerated diastole or systole occurs with every pulsation. |
| 5 h. 24′ 0″ | II. Curarine 0,0005 | 132 | 104 | 118 | 30 | 180 | | Do., do. The double beat shown on the large pulse-movement became indistinct during the next 6 min., a tracing being then obtained similar to that shown in Tracing No. 9. |
| 5 h. 30′ 0″ | VI. Acokantherin 0,0000125 | 108 | 98 | 103 | 28 | 168 | 9 | At the beginning of the injection Tracing No. 9 closely resembled that obtained at the beginning of the experiment (Tracing No. 2). Blood-pressure falling. |
| 5 h. 35′ 0″ | VII. Acokantherin 0,0000125 | 106 | 92 | 99 | 30 | 180 | | The tracing gradually acquiring the characters shown in Tracing No. 10, the size of the movements becoming steadily larger, the exaggerated diastole and systole occurring between every second beat. |
| 5 h. 39′ 45″ | | 106 | 88 | 97 | 20 | 120 | 10 | Characters referred to in above note. Condition continued until 5,49 p. m. with the gradual appearance of large single movements of the pulse. |
| 5 h. 41′ 0″ | VIII. Acokantherin 0,0000125 | 106 | 88 | 97 | 20 | 120 | | Do., do. Large movements of the pulse not showing a double pulsation, very frequent. |
| 5 h. 50′ 20″ | | 120 | 96 | 108 | 18 | 108 | 11 | Irregularities in the rate and size of the pulse-movements, very large movements (10 mm.) predominating. Blood-pressure rising. |
| 5 h. 54′ 0″ | IX. Acokantherin 0,0000125 | 124 | 96 | 110 | 20 | 120 | | Do., do. |

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. | | | Pulse rate per | | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Maximum | Minimum | Average | 10 sec. | 60 sec. | | |
| 6 h. 6′ 0″ | X. Acokantherin 0,0000125 | 120 | 106 | 113 | 27 | 162 | | Many of the apparently large single pulse-movements can be seen to be double. Movements are uniform in size. |
| 6 h. 14′ 0″ | XI. Acokantherin 0,000025 | 116 | 102 | 100 | 26 | 156 | 12 | Pulse-movements very irregular in size. This condition continued to be very marked until death. |
| 6 h. 24′ 0″ | XII. Acokantherin 0,000025 | 106 | 90 | 98 | 24 | 144 | 13 | Do., do. Blood-pressure falling. |
| 6 h. 28′ 0″ | III. Curarine 0,0005 | 84 | 66 | 75 | 20 | 120 | | Do., do., do. |
| 6 h. 37′ 0″ | XIII. Acokantherin 0,000025 | 64 | 46 | 55 | 21 | 126 | | Do., do., do. |
| 6 h. 42′ 0″ | XIV. Acokantherin 0,00005 | 46 | 36 | 41 | 14 | 84 | 14 | The pulse-movements becoming steadily smaller and the large movements occurring at longer intervals. Death occurred 1 1/2 min. after this Tracing (No. 14) was taken, the pulse-curve gradually becoming a mere line. Artificial respiration was then suspended. |

In this experiment the average blood-pressure was not affected by the first four doses of Acokantherin, administered between 4,50 p. m. and 5,10 p. m.; but after the fifth injection at 5,12 p. m. the pressure was distinctly raised. On then dividing both vagi at 5,20 p. m. the blood-pressure at first rose considerably, and gradually sank during the next three minutes. After the eighth, ninth and tenth injections of Acokantherin the blood-pressure again rose slightly, but after each subsequent injection it fell.

The pulse-movements became very large after the third and fourth injections, the blood pressure being the same as at the beginning of the experiment when the pulse-movements were small. After the fifth injection the pulse-movements became still larger (Tracing No. 5), with a rising blood-pressure. When, at 5,20 p. m., both vagi were divided in the neck, the size of the pulse-movements was immediately reduced to a fourth or a fifth of their size prior to the division of the nerves. Four minutes after the vagi were divided an exaggerated diastole or systole occurred with every pulsation, but 10 minutes after the vagi were divided the tracing (No. 9) presented nearly the same characters as at the commencement of the experiment. The seventh and eighth injections caused the reappearance of the large pulse-movements, and these persisted irregularly until the close of the experiment.

The pulse-rate fell distinctly and progressively after each of the first five injections, the rate being 186 per minute at the time of the first injection (4 h. 50′ 10″) and 102 per minute 3 min. 40 sec. after the fifth injection. The period of slowest pulse-rate coincided with that of largest pulse-movement (5 h. 20′ 0″, Tracing No. 6) and rising blood-pressure. On dividing both vagi, with the pulse-rate at 108 per minute, an increase to 180 per minute followed within 60 seconds. The increase in pulse-rate coincided with a great diminution in the size of the pulse-movement, and with a considerable rise in blood-pressure. After the seventh and eighth injections the pulse-rate became again nearly as slow (Tracings Nos. 10 and 11) as before the division of the vagi (Tracing No. 5), and the pulse-movements became again very large. The subsequent injections caused considerable irregularity in the rate of the pulse, which, however, remained slow, and was apparently 84 per minute 90 seconds before the heart movements ceased. Although the vagus-centre is intimately connected with the great increase in the diastolic expansion of the heart observed after the administration of small doses of Acokantherin, the connection is not absolutely necessary, a conclusion which harmonizes with the results of experiments upon frogs.

*Experiment LXXV.* — Weight of rabbit 1470 grams. 2,0 grams of urethane administered by the stomach one hour before the experiment. A total of 0,0027gram of curarine dissolved in 2,7 c.c. of water administered in three divided doses during the experiment, and artificial respiration maintained throughout. A total of 0,000225 gram of Acokantherin dissolved in 4,5 c.c. of water administered in eight divided doses during the experiment. A total of 0,03 gram of sulphate of atropine dissolved in 6 c.c. of water administered in six divided doses during the experiment. Each injection was made into the jugular vein, and the period of each injection occupied from one to three minutes. The vagus nerve was stimulated from time to time with an interrupted electrical current.

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. Maximum | Minimum | Average | Pulse rate per 10 sec. | 60 sec. | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4 h. 44′ 15″ | | | | | | | | Tracing. |
| 4 h. 46′ 10″ | | 112 | 108 | 110 | 41 | 246 | 1 | 2,0 grams of urethane had been administered one hour previously. Natural respiration. Pulse-movements regular in size and rhythm. |
| 4 h. 47′ 0″ | I. Curarine. 0,001 | 112 | 108 | 110 | 41 | 246 | | Do. do. |

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. | | | Pulse rate per | | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Maximum | Minimum | Average | 10 sec. | 60 sec. | | |
| 4 h. 50′ 0″ | | 112 | 106 | 109 | 40 | 240 | 2 | Tracing 1 min. after the completion of first injection of curarine. Artificial respiration begun. Blood-pressure and pulse unaffected in rabbit under the influence of urethane. |
| 4 h. 52′ 20″ | | 120 | 114 | 117 | 39 | 234 | | Blood-pressure slightly higher. Tracing is the same as that which forms the first part of Tracing No. 3, before stimulation of the vagus. |
| 4 h. 52′ 30″ | | | | | | | 3 | Right vagus stimulated in the neck: secondary at 80 mm. marked slowing of pulse and fall of blood-pressure, temporarily. |
| 4 h. 59′ 10″ | | 118 | 112 | 115 | 36 | 216 | 4 | Tracing taken 10 sec. before first injection of Acokantherin when effect of stimulation of vagus had passed off. Pulse-rate slower than before the stimulation. |
| 4 h. 59′ 20″ | I. Acokantherin 0,000025 | | | | | | | The injection (0,5 c.c. solution) occupied 3 min. At the end of the injection the tracing has the characters shown in Tracing No. 5. |
| 5 h. 7′ 10″ | | 122 | 116 | 119 | 34 | 204 | 5 | Since the first injection of Acokantherin the blood-pressure has risen slightly, the pulse-rate has slightly slowed and the size of the pulse-movements has slightly increased. This tracing was taken 10 sec. before the second injection of Acokantherin. |
| 5 h. 7′ 20″ | II. Acokantherin 0,0000125 | | | | | | | The injection (0,25 c.c.) occupied 1 min. 20 sec. and the tracing showed up to the time when injection No. 3 was administered, the characters shown on Tracing No. 6, which was taken just at the commencement of the third injection of Acokantherin. |
| 5 h. 13′ 15″ | III. Acokantherin 0,0000125 | 132 | 124 | 128 | 36 | 216 | 6 | The injection (0,25 c.c.) occupied 1 min. 40 sec. A further and more distinct rise in blood-pressure had followed the second injection with a slight increase in the pulse-rate and a slight increase in the size of the pulse-movements. |
| 5 h. 18′ 30″<br>5 h. 18′ 40″ | | 144<br>146 | 108<br>106 | 126<br>126 | 17<br>14 | 102<br>84 | 7<br>8 | 3 min. after the third injection of Acokantherin very large (up to 16 mm.) diastolic and systolic movements occasionally occurred with an increase in the maximum blood-pressure. 4 min. after the injection this condition of the pulse had become constant and the condition is shown in Tracings Nos. 7 and 8. The pulse-rate was apparently very greatly diminished. The character of Tracing No. 8 closely resembles that of No. 3 obtained by stimulation of the vagus. On administering a dose of curarine sufficient to depress the vagus the character of the tracing immediately changed (v. Tracing No. 9). |

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. Maximum | Minimum | Average | Pulse rate per 10 sec. | 60 sec. | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 h. 19′ 0″ | II. Curarine 0,0007 | | | | | | | The injection of solution of curarine (0,75 c.c.) caused the tracing to assume the character shown in Tracing No. 9. |
| 5 h. 21′ 0″ | | 120 | 116 | 118 | 38 | 228 | 9 | Tracing taken 15 sec. after the completion of curarine injection showing disappearance of exaggerated diastolic and systolic movements, diminution of the maximum blood-pressure and great increase in the pulse-rate. |
| 5 h. 22′ 40″ | | 130 | 122 | 126 | 35 | 210 | | Tracing taken 20 sec. before the commencement of the fourth injection of Acokantherin. It is precisely similar to Tracing No. 6. |
| 5 h. 23′ 0″ | IV. Acokantherin 0,000025 | | | | | | | The injection (0,5 c.c.) occupied 2 min. 40 sec. Before the injection was quite completed the tracing showed the characters illustrated in Tracing No. 10. |
| 5 h. 29′ 10″ | | 148 | 132 | 140 | 18 | 108 | 10 | Tracing taken 3 1/2 min. after completion of the fourth injection of Acokantherin. Marked slowing of the pulse-rate with great increase in the diastolic fall and systolic rise. Pulse regular. Considerable rise of blood-pressure. |
| 5 h. 30′ 10″ | | 152 | 130 | 141 | 17 | 102 | 11 | The condition represented in this tracing shows alternate irregularity as compared with that represented in Tracing No. 10, and the summit of each alternate wave is about twice the height of that of the intervening wave. |
| 5 h. 34′ 0″ | I. Atropine sulphate 0,0025 | | | | | | | Injection of solution (1 c.c.) of atropine sulphate. Immediate fall of blood-pressure, disappearance of large pulse-movements, with doubling of the apparent rate of the pulse. |
| 5 h. 34′ 0″ | *a)* | 138 | 114 | 126 | 18 | 108 | | *a*) Beginning of atropine injection. |
| 5 h. 35′ 0″ | *b)* | | | | | | | *b*) End of atropine injection. The effect of the injection of atropine is shown in Tracing No. 12. |
| 5 h. 47′ 30″ | V. Acokantherin 0,000025 | 116 | 112 | 114 | 33 | 198 | | Tracing at the beginning of the injection similar to Tracing No. 2; but the pulse-movements were slightly larger. Within 1 min. after the injection the large pulse-movements had appeared as shown in Tracing No. 7. |
| 5 h. 50′ 0″ | | | | | | | | Right vagus responded to stimulation: secondary at 80 mm. Effect not quite so marked as that shown in Tracing No. 3. |
| 5 h. 51′ 0″ | II. Atropine sulphate 0,0025 | | | | | | | Injection of solution (1 c.c.) of atropine sulphate. Stimulation of vagus with same current has no effect, but within 5 min. the small pulse-movements which followed the injection of the atropine were replaced by the large pulse-movements, which however had again disappeared before the next injection of Acokantherin was administered. |

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. Maximum | Blood-pressure mm. Minimum | Blood-pressure mm. Average | Pulse rate per 10 sec. | Pulse rate per 60 sec. | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 h. 58′ 30″ | VI. Acokantherin 0,000025 | 114 | 106 | 110 | 34 | 204 | | Injection of solution (0.5 c.c.) of Acokantherin during 2 1/2 min. When half the injection was made, large, nearly regular pulse-movements (12 mm.) had set in and continued. On injecting atropine solution small pulse-movements immediately replaced the large movements, as before. On stimulating the right vagus little change occurred in the size of the pulse-movements; but the blood-pressure fell 20 mm. |
| 6 h. 2′ 30″ | III Atropine sulphate 0,0025 | | | | | | | The injection of atropine sulphate solution (1 c.c.) was again immediately followed by the disappearance of the large pulse-movements and after an interval of a few minutes, by their gradual reappearance, as shown in Tracing No. 12. |
| 6 h. 8′ 0″ | (*a*) (*b*) | 138 110 | 104 102 | 121 106 | 17 34 | 102 204 | 12 | The first part of the tracing (*a*) shows the large slow pulse-movements which have reappeared since atropine was administered. The second part of the tracing (*b*) shows the effect of another dose (IV) of atropine. |
| | IV. Atropine sulphate 0,0025 | | | | | | | Stimulation of the right vagus with the same strength of current (80 mm.) was without effect prior to and after the administration of the atropine. |
| 6 h. 15′ 0″ | V. Atropine sulphate 0,01 | | | | | | | The large pulse-movements reappeared after the last dose of atropine and were again removed on making another injection of atropine. After the administration of the atropine stimulation of the vagus was without effect; but within two min. large pulse-movements began to occur frequently. |
| 6 h. 23′ 0″ | VII. Acokantherin 0,00005 | 140 | 124 | 132 | 28 | 168 | | The injection made when the blood-pressure was high and the pulse irregular, small pulse-movements occurring along with others of great size (14 mm.). On testing the vagus it was found that with the same strength of current used early in the experiment the blood-pressure was decidedly lowered; but the large pulse movements were abolished instead of being increased, and the pulse was apparently quickened. The pulse-movements continued irregular. |
| 6 h. 34′ 0″ | VIII. Acokantherin 0,00005 | 92 | 88 | 90 | 34 | 204 | | Blood-pressure fallen greatly after injection. Pulse-movements very small, with larger ones at intervals. |
| 6 h. 36′ 0″ | VI. Atropine sulphate 0,01 | | | | | | | Do., do. |

| Time | Substance administered and its dose in grams | Blood-pressure mm. | | | Pulse rate per | | No. of Tracing | NOTES |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Maximum | Minimum | Average | 10 sec. | 60 sec. | | |
| 6 h. 37′ 0″ | | | | | | | | Stimulation of vagus, secondary at 80 mm., without effect; but fairly large pulse-movements occur frequently and irregularly. |
| 6 h. 40′ 0″ | | | | | | | | Stimulation of vagus, secondary at 60 mm., without apparent effect. |
| 6 h. 41′ 0″ | | 110 | 88 | 99 | 16 | 96 | 13 | Tracing taken 10 sec. before the next stimulation of vagus. Large irregular pulse-movements. |
| 6 h. 41′ 20″ | | 108 | 78 | 93 | | | 14 | Stimulation of the vagus for 24 sec., secondary at 40 mm. Slight fall in blood-pressure. Pulse-movements reduced in size, and the rate of the pulse apparently increased. |
| 6 h 42′ 20″ | | 120 | 94 | 107 | 17 | 102 | 15 | Large irregular pulse-movements continuing after the vagus stimulation was found to be apparently without effect. Natural respiration had now appeared and the experiment was terminated. |

In this experiment the earlier doses of Acokantherin raised the blood-pressure slightly; but the fourth injection raised the blood-pressure in a marked degree, and thereafter the effects of the Acokantherin upon the blood-pressure were complicated by the administration of frequent doses of atropine.

The slowing of the pulse-rate after the administration of the third and fourth doses of Acokantherin was very marked, and, to a greater or less extent, the same result followed the administration of each dose of Acokantherin up to the close of the experiment, notwithstanding the administration of frequent and large doses of atropine. The immediate effect of the injection of atropine was to increase greatly the rate of the pulse and at the same time to lower the blood-pressure; but within a few minutes the characters which the tracing had before the injection of atropine were restored.

After the third and fourth injections of Acokantherin the pulse-movements became very large, and remained large and uniform for considerable periods. On administering curarine, in a dose sufficient to weaken for a brief period the cardio-inhibitory function of the vagus, the character of the tracing was immediately altered (compare Tracings No. 8, before curarine, and No. 9, after curarine), the pulse-movements being reduced to about one-fifteenth of their previous size. The same effect was produced by the administration of atropine (Tracing No. 12). A few minutes after

the administration of each one of the repeated doses of atropine the pulse-movements became again very large (first part of Tracing No. 12), and the vagus, on stimulation, was found to be active.

Towards the end of the experiment large pulse-movements occurred (Tracings Nos. 13 and 15), associated with considerable cardiac irregularity, but with only slight lowering of the blood-pressure, and, at this time, stimulation of the vagus (Tracing No. 14) with twice the strength of current which produced a marked effect at the beginning of the experiment (Tracing No. 3) was without apparent result.

It would seem, therefore, that while the early increase in the size of the pulse-movements, associated with a regular action of the heart, is intimately connected with the vagus, great increase of pulse-movement occurs sometimes associated with an irregular action of the heart, at a time when the inhibitory function of the vagus is apparently paralysed. In experiment No. LXXIV, also, large and sometimes very regular pulse-movements occurred (Tracings Nos. 8 and 10) after the division of the vagi.

From the great difficulty of maintaining paralysis of the cardio-inhibitory function of the vagus by administration of atropine it would appear that Acokantherin lessened this action of atropine.

The experiments LXXII, LXXIV and LXXV show that Acokantherin can produce a great increase in the extent of the diastolic and systolic movements of the heart even at a time when the blood-pressure is not at all, or little affected, an effect which is in harmony with the results of the perfusion experiments upon frogs.

The rise of blood-pressure which follows the administration of several small and carefully regulated doses (Experiments Nos. LXXII and LXXIV) is accompanied by so great a slowing of the rate, and by so great an increase in the extent of the pulse-movement, that constriction of blood-vessels seems contra-indicated, and what rise of blood-pressure, if any, does occur, with such doses, must therefore be mainly, if not entirely, attributed to a perfect pumping action of the heart due to an increase in the vigour and amplitude of its movements, and the consequently greater volume of blood propelled into the arteries.

From the results obtained in Experiment LXXIII, where a relatively large dose of Acokantherin was administered, it is suggested (Tracing No. 5) that with such a dose the vaso-motor centres are stimulated, or that a temporary direct constricting influence upon the blood-vessels is produced; but the latter supposition is rendered improbable by the results of the perfusion experiments on frogs.

It also appears from the results of the division of the vagi that Acokantherin acts directly upon the muscle of the heart and probably also upon its nerves.

*e)* Respiration.

In frogs poisoned with small lethal doses of Acokantherin there is great disturbance of respiration for some considerable time before the reflexes fail. This is due not to any direct action on the respiratory centres but to irregularity in or arrest of the circulation. The respiratory movements continue long after the heart is arrested.

This point may be demonstrated by administering Acokantherin to one frog, and, when its heart comes to a standstill, ligaturing the heart in an unpoisoned frog. Similar disturbances of respiration occur in both frogs, and, with such doses, the reflexes in poisoned and unpoisoned frogs whose circulation is arrested at the same moment, fail at about the same time.

When lethal doses of Acokantherin are administered to warm-blooded animals the direct action upon the heart is so pronounced, and the circulation is usually so much affected, that we have been unable to satisfy ourselves that the marked respiratory disturbances which often occur, and which have been attributed by some observers to an action on the cardio-respiratory centres in the medulla are due to this cause, and we are of opinion that there is insufficient experimental evidence to show that death is due to a direct action upon the nerve-centres in the medulla.

In four experiments on rabbits on which tracheotomy was performed before a lethal dose of Acokantherin was administered, respiratory disturbances were absent, which seems to show that the laboured breathing usually present may be due to laryngeal difficulty.

*Experiment LXXVI.* — In a rabbit weighing 2154,5 grams tracheotomy was performed under chloroform anaesthesia, a canula was inserted in the trachea and the administration of the anaesthetic discontinued. Shortly thereafter, when the animal had for the most part recovered from the effect of the anaesthetic, 0,0006 gram of Acokantherin, the minimum-lethal dose, in 0,2 c.c. normal saline solution was injected subcutaneously into the right flank, the respirations being 9, and the cardiac impacts 42 per 10 sec. After 6 minutes the cardiac impacts suddenly became irregular for a brief period, and the respirations were reduced to 7 per 10 sec.; but immediately thereafter the cardiac impacts became regular at the rate of 40 per

10 sec., and the respirations were 8 per 10 seconds. During the next five minutes the condition remained unchanged. In 12 minutes the cardiac impacts were reduced to 34 per 10 seconds, while the respirations were increased to 12 per 10 seconds. In 21 minutes the respirations were 13 per 10 seconds, and were full and free, and the cardiac impacts were strong but irregular at the rate of 30 per 10 seconds. In 25 minutes the respirations were unchanged, but the cardiac impacts were very irregular and the rate had fallen to only 25 per 10 seconds. In 36 minutes the respirations were 10 per 10 seconds, and the cardiac impacts, which were extremely irregular, 27 per 10 seconds. In 47 minutes the respirations were at the rate of 9 per 10 seconds, and were shallower, while the cardiac impacts were felt as a mere fluttering, with occasional stoppages. Two minutes later no cardiac movements could be felt, but the respirations continued at the regular rate of 9 or 10 per 10 seconds, the breathing being very shallow. Sharp brief general convulsions then occurred and the pupils became widely dilated. During three minutes after the cessation of the convulsive movements, 31 fairly deep and regular respirations occurred; but no cardiac movement could be detected. These respiratory movements seemed to be solely diaphragmatic. Intestinal peristalsis continued.

On immediate *post-mortem* examination the heart was found motionless in moderate diastole. The right auricle and the venae cavae were dark in colour, the left auricle and pulmonary veins were red, and the lungs were scarlet in colour. Sixteen minutes after death stimulation of the left sciatic nerve with an interrupted current, the secondary being at 350 mm., caused muscular contraction, but no movement of the heart was produced on direct stimulation with the full strength of the current, while, with this strength of current, the skeletal muscles contracted powerfully. In 46 minutes stimulation of the sciatic nerve with the full strength of the current produced merely the faintest twitch of the toe, but the muscles still contracted strongly on direct stimulation.

In the Preliminary Notice of this Paper we stated that the pharmacological action of the crystalline active principle of *Acokanthera Schimperi*, « closely resembles, if it be not identical with, that of Strophanthin. »

It appears necessary to point out that in 1870 (44) and in 1872 one of us described the pharmacological action of *Strophanthus hispidus* as follows: — « 1. Strophanthus acts primarily upon the heart, and produces, as a result of this action, paralysis of that organ with permanence of the ventricular systole » — « acts in a powerful and direct manner upon the cardiac muscular fibre, greatly prolonging, in the first place, the contraction of

these fibres, and ultimately rendering it continuous »; « in frogs this action on the heart is independent of any influence exerted through the cerebro-spinal nervous system, as it occurs after destruction of the brain and spinal cord, and after division or paralysis by atropine of the vagi nerves ». « 2. Pulmonary respiration continues in cold-blooded animals for several minutes after the heart is paralysed. » « 3. The striped muscles of the body are acted upon, twitches occur in them, their tonicity is exaggerated, and finally their functional activity is destroyed, the muscles being then hard and soon afterwards acid in reaction. These changes are accomplished subsequently to the final effect upon the heart. They are the result of direct contact of the substance with the muscles themselves, and are independent of the action of the heart as well as of any changes that occur in the physiological condition of the cerebro-spinal nervous system. »

The crystalline active principle derived from this *Strophanthus hispidus*, to which the name Strophanthin was given in 1870, was then found to act in the same way as the extract from the seeds (4).

These actions are also very prominent in the case of the group of arrow-poisons which owe their activity to extracts of *Acokanthera* species; and we are disposed to emphasise only slightly the action upon the medullary centres, or to regard them as secondary in importance, and to regard the predominant action as one upon striped muscle-fibre. Because of this action on striped muscle, with possibly an action upon the intrinsic cardio-motor-ganglia, the chief action of these substances is exerted upon the heart.

## EXPLANATION OF PLATES I-VIII.

### Plate. I.

*A*. Arrow from a district 75 miles N. N. W. from Zanzibar. From Dr. FELKIN. (FRASER, *Trans. Roy. Soc. Edin.* vol. XXXV, pt. IV, 1880-90, p. 965, Plate II, Fig. A.) Natural size. (V. p. 359.)

*B*. Arrow from WaNyika country. From Dr. FELKIN. Found to be active. (FRASER, *Trans. Roy. Soc. Edin.* vol. XXXV, pt. IV, 1889-90, p. 966, Plate II, Fig. B.) Natural size. The 12 WaNyika arrows obtained from Mr. WEAVER are similar to arrow B. (V. p. 359.)

*C*. Arrow from Chaga, Kilima Njaro, obtained from the WaKamba, who had come from Ukambani. From Rev. Wm. MORRIS. Found to be active. Natural size. (V. p. 359.)

*D*. Arrow from village, 40 miles inland, between Mombasa and Mount Kilima Njaro. From Mr. J. H. HORSBURGH, M. B. Found to be active, and to contain a crystalline active principle. Natural size. (V. p. 359.)

### Plate II.

*E.* Spear-head used in elephant-hunting by the Wandorobbo tribe, showing grey patches where the inner layer of the skin-covering has adhered to the poison. From Mr. G. SCOTT ELLIOT. Found to be active. Reduced 2 1/2 times. (V. p. 360.)

*F.* Part of spear-head E. Natural size. (V. p. 360.)

*G.* Packet of WaNyika poison. From Dr. FELKIN. (FRASER, *Trans. Roy. Soc. Edin.* vol. XXXV, pt. IV, 1889-90, p. 967, Plate II, Fig. J.) Packets of the same poison obtained from Rev. Wm. MORRIS. Similar packets of WaGiriyama poison obtained from Rev. DOUGLAS HOOPER. All specimens found to be very active. The WaGiriyama poison yielded a crystalline active principle. Natural size. (V. p. 359.)

### Plate III.

*Fig. 1.* — Transverse section of small branch of *Acokanthera Schimperi* showing *(a)* the ramifications of the cork-cells in the cortical parenchyma; *(b)* the bast-cells, usually isolated in the cortical parenchyma, and in bundles in the liber-layer. × 40. (V. p. 363.)

*Fig. 2* — Transverse section of small branch of *Acokanthera Schimperi* showing *(a)* cortical parenchyma with sclerenchymatous cells isolated or in small groups; *(b)* liber-layer with large groups of sclerenchymatous cells; *(c)* cambium-layer; *(d)* wood. × 230. (V. p. 363.)

*Fig. 3.* — Transverse section of small branch of *Acokanthera Schimperi* showing relative sizes of an average cluster of bast-cells in the liber-layer. × 300. (V. p. 363.)

*Fig. 4.* — Transverse section of small branch of a species of *Acokanthera* which did not yield a crystalline active principle, showing relative sizes of bast-cells in the liber-layer. × 300. (V. p. 363.)

*Fig. 5.* — Transverse section of small branch of *Acokanthera venenata* showing relative sizes of an average cluster of bast-cells in the liber-layer. × 300. (V. p. 363.)

### Plate IV.

*Fig. 1.* — Flowering specimen of *Acokanthera Schimperi* obtained near Nelinde Tropical East Africa. (Several leaves and flowers have been reproduced from other specimens from the same tree to take the place of those which had been broken in the specimen drawn). Natural size. (V. p. 364.)

*Fig. 2.* — Flower, unexpanded. × 3.

*Fig. 3.* — Flower, expanded. × 3. (V. p. 365.)

*Fig. 4.* — Flower, longitudinal section. × 3.

*Fig. 5.* — Sepal, showing marginal hairs. × 20. (V. p. 365.)

*Fig. 6.* — Stigma and part of style. × 20. (V. p. 366.)

*Figs. 7 & 8.* — Anther. × 20. (V. p. 366.)

*Fig. 9.* — Fruit. Natural size.

*Fig. 10.* — Fruit. Longitudinal section near middle of fruit, showing the two seeds. Natural size. (V. p. 366.)

*Fig. 11.* — Fruit. Transverse section through middle of fruit, showing the two seeds — one aborted. Natural size.

*Note.* — The figures on Plate IV are representations of specimens obtained from near Melinde, Tropical East Africa, and sent to us preserved in alcohol, along with

specimens of the leaves and wood of the individual arrow-poison tree from which the flowers and subsequently the fruit were taken.

From this wood the crystalline Acokantherin described in the previous pages was prepared.

**Plate V.**

Curves of Experiments LXIII to LXXI (pp. 398—403), representing the effects produced on the blood-vessels of frogs by perfusion of normal saline solution (0,75 per cent.), and of solutions of Acokantherin and of digitalin in normal saline.

**Plate VI.**

*Experiment LXXII.* — Blood-pressure tracings taken from carotid artery of a rabbit. A total of 0,000248 gram of Acokantherin administered in six divided doses. Natural respiration. Tracings 1 and 2 before Acokantherin; 3 to 11 after injections of Acokantherin into the external jugular vein. The tracings show great increase in amount of pulse-movements, and reduction in the rate of the pulse (p. 404).

*Experiment LXXIII.* — Blood-pressure tracings taken from carotid artery of a rabbit. 2,2 grams of urethane were administered by the stomach an hour before the experiment. A motor-paralysing dose, 0,001 gram, of curarine was administered at the commencement of the experiment, and artificial respiration was begun and continued to the end. A single dose, 0,000125 gram, of Acokantherin was administered by injection, occupying 2 minutes, into the external jugular vein. Tracings 3 to 7 after Acokantherin. The chief effect is the distinct rise of blood-pressure (p. 406).

*Experiment LXXIV.* — Blood-pressure tracings taken from carotid artery of a rabbit. 2 grams of urethane were administered by the stomach about 1 hour before the commencement of the experiment. A total of 0,002 gram of curarine administered by intra-venous injection in 3 divided doses, and artificial respiration maintained throughout the experiment. Acokantherin administered in 14 doses during 1 hour 52 minutes, the total being 0,00025 gram in 5 c.c. distilled water. Tracings 1 and 2, before Acokantherin; 3 to 14, after Acokantherin. 5, very large pulse-movements. 6, vagi divided; reduction in size of pulse-movements on division of vagi. 9, reappearance of large pulse-movements (p. 408).

*Experiment LXXV.* — Blood-pressure tracings taken from the carotid artery of a rabbit. 2 grams of urethane administered by the stomach one hour before the experiment A total of 0,0027 gram of curarine dissolved in 2,7 c.c. of water administered in 3 divided doses during the experiment, and artificial respiration maintained throughout. A total of 0,000225 gram of Acokantherin dissolved in 4,5 c.c. of water administered in 8 divided doses, and a total of 0,03 gram of sulphate of atropine dissolved in 6 c.c. of water administered in 6 divided doses during the experiment. Vagus nerve stimulated from time to time. Tracings 1 to 4, before Acokantherin; 5 to 15, after Acokantherin; 8 before, and 9 after curarine; 12, before and after atropine. Reduction of size of pulse-movements after curarine and after atropine (p. 411).

## BIBLIOGRAPHY.

1. Burton : *The Lake Regions of Central Africa.* London, 1860. vol. II, p. 305.

2. Stuhlmann : *Mit Emin Pascha ins Herz von Afrika.* Berlin, 1894. *(a)* p. 36; *(b)* p. 87; *(c)* p. 108; *(d)* p. 455; *(e)* p. 548; *(f)* p. 434.

3. BAUMANN : *Durch Massailand zur Nilquelle.* Berlin, 1894, *(a)* p. 168; *(b)* p. 232; *(c)* p. 211; *(d)* p. 202; *(e)* p. 171.

4. FRASER : *Transactions Royal Society of Edinburgh.* 1890, vol. XXXV, *(a)* p. 971; *(b)* p. 963; *(c)* pp. 967, 972; *(d)* p. 965; *(e)* p. 958.

5. CAMERON : *Across Africa.* London, 1877, *(a)* vol. I, p. 325; *(b)* vol. II, p. 9.

5a. *Unpublished letter* from Rev. WILLIAM MORRIS, Sagalia, Taita, 8th April 1890.

6. *Unpublished letter* from Mr. E. J L. BERKELEY, Administrator, Imperial British East Africa Company, Mombasa, 12th Sept. 1892.

7. WILLOUGHBY : *East Africa and its Big Game.* London, 1889, *(a)* p. 269; *(b)* p. 59; *(c)* p. 285.

8. KRAPF : *Travels, Researches and Missionary Labours.* London, 1860, *(a)* p. 357; *(b)* p. 315.

9. THOMSON : *Through Masailand.* London, 1885, *(a)* p. 320; *(b)* p. 382.

10. VON HÖHNEL : *Discovery by* Count TELEKI *of Lakes Rudolf and Stephanie.* London, 1894, *(a)* vol. I, p. 308; *(b)* vol. II, p. 32; *(c)* vol. I, p. 282; *(d)* vol. II, p. 359; *(e)* vol. II, p. 309.

11. BAKER : *The Albert Nyanza.* London, 1872, p. 79.

12. SCHWEINFURTH : *Heart of Africa.* London, 1874, vol I, p. 300.

13. JAMES : *The Unknown Horn of Africa.* London, 1888, *(a)* pp. 166—169; *(b)* p. 137; *(c)* pp. 69—70; *(d)* p. 320; *(e)* p. 325.

14. VAUGHAN : *Pharmaceutical Journal and Transactions.* 1852, vol. XII, p. 271.

15. BURTON : *First Footsteps in East Africa.* London, 1894, *(a)* vol. I, p. 24, note; *(b)* vol. I, p. 139, note; *(c)* vol. I, p. 141, note 5; *(d)* vol. I, p. 138, note 3; *(e)* vol. I, p. 140, note, experiment 2.

16. HILDEBRANDT : *Zeitschrift der Gesellschaft für Erdkunde zu Berlin.* 1875, 5th ser., vol. X, p. 280.

17. RÉVOIL : *Faune et Flore des Pays Çomalis.* Paris, 1882. Appendix *(a)* p. 6; *(b)* p. 9; *(c)* p. 10; *(d)* pp. 15—23; *(e)* pp. 76—78.

18. ARNAUD : *Comptes rendus.* 1888, vol. 106, *(a)* p. 1011; *(b)* p. 1013; *(c)* vol. 107, pp. 348, 1164.

19. CATHELINEAU : *Journal de Pharmacie et de Chimie.* 1889, 5e. sér., vol. XX, *(a)* p. 441; *(b)* pp. 436, 442.

20. LEWIN : *Botanische Jahrbücher.* Vol. XVII, parts 3 and 4, No. 41, *(a)* p. 49; *(b)* loc. cit., pp. 46, 48.

21. *Comptes rendus.* 1888, vol. 107, (*a*) p. 348; (*b*) p. 1164.

22. SCHWEINFURTH : *Le Piante. Utili dell' Eritrea.* Napoli, 1891, p. 12. (Estratto dal *Bollettino della Società Africana d'Italia.* Anno X, No. XI-XII-Nov.-Dec. 1891.)

23. OLIVER, in appendix : *The Unknown Horn of Africa.* JAMES, London, 1888, p. 317.

24. *Journal of the Linnean Society.* 1886, vol. XXI, p. 402.

25. HOLMES : *Pharmaceutical Journal.* London, 15th July, 1893, p. 41.

26. *Pharmaceutical Journal* 1880-1881, pp. 833-835.

26a. *Letter* from Dr. ARDAGH to Rev. Mr. LOWE, Edinburgh Missionary Society, 26th Jan. 1889.

27. *Letters* from Rev. Wm. MORRIS, Chaga, (Kilimanjaro), 4th Nov. 1889; Sa-galla (Taita), 8th April 1890; Shimba (near Mombasa), 26th Dec. 1890, and 29th Jan. 1891; Chester (England), 30th June 1891, 26th Jan. and 6th Sept. 1892.

27a. *Letter* from Mr. WEAVER, Melinde, 20 Aug. 1892, sending report to Mr. FITZGERALD (forwarded by Mr. BERKELEY); letter from Rev. Mr. HOOPER, Jilore, 14th March, 1892, to Mr. FITZGERALD (forwarded by Mr. BERKELEY).

28. *Letter* from Mr. E. J. L. BERKELEY, Mombasa, 12th Sept. 1892.

29. *Letter* from Mr. WEAVER, Magarini, 5th June, 1894.

30. *Letter* from Imperial British East Africa Company, Ld. 19th October, 1894, enclosing Report from Mr. WEAVER.

31. *Letters* from Mr. J. R. W. PIGOTT, Mombasa, 3rd July, 1893, and 14th Dec. 1894, enclosing copy of Report by Mr. JAMES WEAVER, Melinde, 7th Dec. 1894.

32. *Genera Plantarum*, 1876, vol. II, p. 696.

33. RICHARD : *Tentamen Florae Abyssinicae*, 1839-1843, (*a*) vol. V, p. 31; (*b*) Atlas, Plate 68.

34. SCHWEINFURTH : *Abyssinische Pflanzennamen*. Berlin, 1893, p. 53.

35. GARCIN : *Recherches sur les Apocynées*, Lyon, 1889, p. 121.

36. HARVEY : *Thesaurus Capensis*, p. 10, Fig. XVI *(Toxicophlaea Thunbergii)*.

37. HOOKER : *Curtis's Botanical Magazine*, 1878, vol. XXXIV. (Third. ser.) Tab. 6359

38. *Letter* from Dr. THISELTON-DYER, Director, Royal Gardens, Kew. (*a*) 7th Dec. 1894, and (*b*) 29th Jan. 1895, enclosing Memoranda by Dr. O. STAPF.

39. CATHELINEAU : *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 5e sér., 1889, (*a*) pp. 437, 439, 440; (*b*) p. 441.

40. VIRCHOW'S *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin*, 1893, vol. CXXXIV, part 2, p. 231.

41. *Comptes Rendus de la Société de Biologie*, (*a*) 1887, vol. IV, pp. 52, 63, 370; (*b*) 1888, vol. V, p. 419; (*c*) 1888, vol. 5, p. 421.

42. *Comptes Rendus*, 1888, vol. CVII, p. 348.

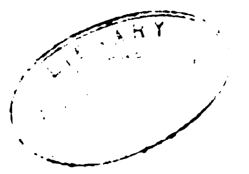
43. *Therapeutic Gazette*, 1891, vol. XV, pp. 727, 814.

44. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh*, vol. VII, 1869-70, pp. 99-103.

45. DON : *Gardener's Dictionary*. London, vol. IV, 1838, p. 485.

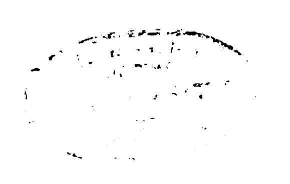
## NOTE.

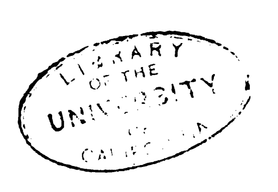
Machakos's village (Machako or Iveti) lies in the Ulu Highlands, at the north-west corner of the country of the WaKamba (Ukambani), some 50 miles east of the district where count TELIKI and VON HÖHNEL obtained the Acokanthera named « *morio* » or « *morijo* », which is stated to be the source of the Wakikuyu and Wandorobbo arrow-poisons. According to VON HÖHNEL the WaKamba arrows are « tipped with a very effective vegetable poison », but its botanical source is not indicated.


LIBRARY


OF THE
UNIVE ITY






OF THE

100
3·0
Cubcent.
2·5
2·0
1·5
1·0
0·5
0·0
3·0
2·5
2·0
1·5
1·0
0·5
0·0
100




UNIVERSITY



AUS DEM INSTITUT FÜR SERUMFORSCHUNG UND SERUMPRÜFUNG
ZU STEGLITZ BEI BERLIN (DIRECTOR Pr Dr P. EHRLICH).

# Ueber die Grenzen der Wirksamkeit des Diphterie-Heilserums

VON

PROF. W. DÖNITZ.

Nachdem ich in einer früheren Arbeit (Deutsche Med. Woch. 1897, 27) nachgewiesen hatte, dass das *Tetanus-Heilserum* nicht nur im Stande ist, in dem Blute frei cirkulirendes Tetanusgift zu binden, sondern dass es auch schon *gebundenes Gift zu lockern und aus seinen Verbindungen auszutreiben* vermag, erschien es mir zweckmässig, auch für das *Diphtherie-Heilserum* entsprechende Versuche anzustellen, da die Litteratur, so weit sie mir bekannt ist, nichts enthält, was uns über die Vorgänge näher aufklärte, die bei der Heilung einer Diphtherievergiftung sich abspielen. Man könnte eine schon aus dem Jahre 1892 stammende Mittheilung von BEHRING und WERNICKE (Zeitschr. f. Hyg., 1892, Bd. XII, 19) heranziehen, welche lautet : « Bei solchen Infectionen, an welchen Meerschweinchen nach 3—4 Tagen zu Grunde gehen, wurde sofort nach der Infection das 1 1/2 bis 2 fache derjenigen Dosis zur glatten Heilung gebraucht, die zur einfachen Immunisiring ausgereicht hatte; *acht* Stunden nach der Infection mussten wir das 3 *fache* nehmen, und wenn wir erst nach *24 bis 36 Stunden* die Behandlung begonnen haben, so mussten wir — refracta dosi — bis zum *8 fachen* steigen. »

Die Autoren sind aber nicht näher auf diese Erscheinung eingegangen, augenscheinlich weil ihnen damals ein anderes Ziel für ihre Arbeiten vorschwebte. Ihre Protokolle aber werden von Gegnern der Serumtherapie

so gedeutet, als ob sie keine sichere wissenschaftliche Grundlage für die neue Heilmethode geliefert hätten, und dem entsprechend werden auch die Erfolge bemängelt, welche man aus allen Krankenhäusen meldet, in denen die Serumtherapie Eingang gefunden hat.

Alle diese Einwände müssen sich aber experimentell erledigen lassen, zumal wir heute ein viel hundertmal hochwehrtigeres Serum besitzen als es BEHRING anfangs zu Gebote stand. Ich habe es deshalb unternommen, die Grenzen der Wirksamkeit dieses Serums als *Heilmittel* festzustellen, indem ich es gegen Vergiftungen mit abgetöteten Bouillon-Kulturen des Diphtheriebacillus anwandte. Infectionen mit lebenden Kulturen waren für diesen Zweck nicht anwendbar, weil wir dabei nicht im Stande sind zu ermessen, wie viel Gift in einem gegebenen Augenblicke diese Bakterien in dem inficirten Organismus entwickelt haben. Bei den Versuchen aber, wie ich sie im Auge hatte, musste mit fest bestimmbaren Grössen gearbeitet werden.

Wenn es gilt, ziffermässig festzulegen, wie weit die Wirksamkeit eines Gegengiftes reicht, so muss man zunächst die Stärke des benutzten Giftes kennen. Bei chemisch reinen Substanzen lässt sich das durch eine Zahl ausdrücken, welche nach Maass oder Gewicht die Menge des verbrauchten Giftes angiebt. Anders ist es bei *Bakteriengiften,* weil wir diese noch nicht im Zustande der Reinheit kennen; denn ob wir nun mit diesem Namen einfach abgetötete Kulturen bezeichnen, oder Fällungen irgend welcher Art, so wissen wir, dass sie neben dem eigentlichen, specifischen Gift, dem sogenannten *Toxin,* noch eine Anzahl *anderer Bakterienprodukte* enthalten, welche sehr störend in diese Untersuchungen eingreifen, weil auch sie Gegengift zu binden vermögen(1). Dazu kommt, dass das Verhältniss dieser Substanzen zur Menge des specifischen Giftes in jeder Kultur verschieden ist, und dass sogar in derselben Kultur dieses Verhältniss Aenderungen unterworfen ist, indem *Toxin* durch Atomumlagerung sich in *Toxoid* umwandelt, wie EHRLICH diese Substanzen genannt hat. Es wird genügen, hier kurz auf diese Verhältnisse hingewiesen zu haben, die EHRLICH in seiner Arbeit : « *Die Werthbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen;* Iena, G. Fischer, 1897 » an einer Reihe von Diphtheriegiften nachgewiesen hat(1).

Ich benutzte deshalb zu allen meinen Versuchen immer ein und dasselbe Gift, dessen Constitution genau bekannt war. Est ist das in EHRLICH's Arbeit, Seite 10, als Gift N° 4, Marke braun, bezeichnete. Dies

(1) P. EHRLICH : *Constitution des Diphtheriegiftes.* Deutsche Med. Woch., 1898, N° 38.

ist eine alte, abgelagerte, durch Schütteln mit Toluol sterilisirte und durch Aufbewahrung unter Toluol steril erhaltene Kultur, in welcher die unausbleiblichen Umlagerungen, speciell die Umwandlung eines Theiles des Toxines in Toxoide schon abgelaufen oder wenigstens zum Stillstand gekommen war, wie die von Zeit zu Zeit vorgenommenen Werthbestimmungen ergaben.

Ich hielt es für nöthig, dies ausdrücklich zu bemerken, weil ein Theil meiner Versuche im Sommer 1897, ein anderer Theil im folgenden Winter angestellt wurden, so dass sie zeitlich so weit auseinander liegen, dass bei mangelnder Constanz des Giftes die zuletzt gewonnenen Zahlen nicht ohne Umrechnung mit den ersten zusammengestellt werden dürften.

Ich muss ferner voraufschicken, dass bei solchen Versuchen die intravenöse Injection unerlässliche Bedingung ist, weil ausser der Dosis des Giftes auch der genaue Zeitpunkt der Vergiftung beachtet werden muss. Spritzt man das Gift subcutan ein, so weiss man weder, wie lebhaft die Resorption erfolgt, noch wann sie beendet ist. Die Wahl der Injectionsstelle ist bei manchen Giften sicher nicht gleichgültig, denn bei unseren officiellen Prüfungen des Diphtherie-heilserums haben wir oft genug die Erfahrung gemacht, dass die örtliche Reaction anders ausfällt, je nachdem man rein subcutan oder zwischen die breiten Bauchmuskeln einspritzt.

Vom Diphtgeriegift wird man sogar annehmen müssen, dass es *theilweise in dem subcutanen Bindegewebe der Meerschweinchen zurückgehalten wird,* denn der Umstand, dass es dort leicht Nekrosen hervorruft, spricht für eine *besondere Verwandschaft zum Bindgewebe dieser Thiere.* (Das gilt aber nicht für das Bindegewebe im Allgemeinen, denn bei der Maus z. B. macht dieses Gift überhaupt keine Induration, auch wenn man eine Dosis verwendet, welche für das Meerschweinchen hundertfach tötlich sein würde).

Um also zu vermeiden, dass ein Theil des Giftes an der Injectionsstelle zurückgehalten und damit dem Einfluss des Antitoxins entzogen wird, muss man zu solchen Versuchen nothwendiger Weise die intravenöse Injection wählen. Nur dadurch wird das Gift gleichmässig allen Organen zugeführt; nur dadurch wird es auf einmal allen die toxophilen Stoffe enthaltenden Zellen oder Geweben zugänglich, wo immer sie bei der betreffenden Thierspecies liegen mögen. Das Gift kann also sofort in Wirksamkeit treten, und seine Bindung wird bei seiner leichten Diffusionsfähigkeit schnell beendet sein.

Was hier vom Gift zu Gunsten der intravenösen Injection gesagt wurde, gilt vielleicht in noch höherem Maasse für das Serum, da, wie aus

verschiedenen Untersuchungen bekannt ist, von denen nur diejenigen von ROUX und VAN DE VELDE erwähnt sein mögen, das Blutserum vom subcutanen Bindegewebe aus nur ganz allmählich resorbirt wird.

Mit dem Erforderniss der *intravenösen Injection* war auch das *Kaninchen* als Versuchsthier gegeben, für welches nun zunächst die minimale tötliche Dosis bestimmt werden musste. Sie stellte sich, wie Tabelle I zeigt, auf 0,004 c.c. für Thiere von 1800—2100 gr. Gewicht, wie solche für die vorliegenden Versuche benutzt wurden.

TABELLE I. — *Toxicität des Giftes.*

| DOSIS | ERFOLG | |
|---|---|---|
| | Sommer | Winter |
| 0,006 | 4 | 6 |
| 0,005 | 3; 4 | 4 |
| 0,0045 | 8 | 16 |
| 0,004 | 6; 8; 10 | 5 |
| 0,0035 | 0 | · 0 |
| 0,003 | 0 | 0 |
| 0,0025 | 0 | — |
| 0,002 | 0 | — |

Die Zahlen unter der Rubrik « Erfolg » geben den Todestag der Kaninchen an; eine 0 bedeutet, dass sie dem Gifte nicht erlegen sind. Die erste Reihe umfasst Versuche aus dem Sommer 1897, die zweite Reihe solche aus dem folgenden Winter. Beide Reihen zeigen, das kein Thier, welches 0,004 oder mehr erhielt, mit dem Leben davon kam. Der Tod trat durchschnittlich im Laufe der ersten Woche ein. Man sieht, dass die Versuche im Winter eben so verlaufen wie im Sommer. Nur das im Winter mit 0,0045 vergiftete Thier ist etwas spät gestorben, aber solche kleinen Unregelmässigkeiten kommen jederzeit bei Thiermaterial vor, dessen Herkunft nicht kontrollirt werden kann.

Als *Gegengift* wurde das *Standard-Serum des Institutes* benutzt, welches die Lösung eines von den Höchster Farbwerken uns überlassenen Trockenserums in verdünntem Glycerin darstellt und im Kubikcentimeter 17 Immunitätseinheiten enthält (1). Daneben wurde ein im Institute hergesteltes Serum von 370 I. E. gebraucht, das ich als *Vollserum* bezeichne, weit es niemals zur Herstellung von *Verdünnungen* diente wie das Standard-Serum.

Die Kaninchen wurden am liebsten im Gewichte von 1800 gr. gewählt, doch waren auch schwerere, bis zu 2100 gr. noch brauchbar,

(1) Vergl. EHRLICH : *Werthbestimmung*, S. 32.

während jüngere, leichtere Thiere, selbst bis zu 1750 gr. schwere, sich merklich empfindlicher zeigten und deshalb von diesen vergleichenden Versuchen ganz ausgeschlossen wurden, ebenso wie grössere Thiere, die sich weniger empfindlich zeigten.

Ueber die Ausführung der Versuche bemerke ich noch, dass regelmässig das Gift in die Randvene des einen Ohres, das Serum in die des anderen Ohres eingespritzt wurde. Wo es sich um sofortige Seruminjection handelte, war diese in weniger als einer Minute nach der Vergiftung beendet, und nur in den seltenen Fällen, wo unvorhergesehene kleine Hindernisse eintraten, dehnte sich dieser Zeitraum bis auf höchstens zwei Minuten aus.

Für gewöhnlich arbeitete ich mit *starken Vergiftungen,* um die Resultate sicher über den Bereich des Zufälligen zu erheben. So entsprach die vielfach gemachte Injection von 3 c.c. des auf $^1/_{100}$ verdünnten Giftes ziemlich genau der 7 fachen tötlichen Minimaldosis. Sie wurde durch 4 c.c. des auf $^1/_{200}$ verdünnten Standardserums neutralisirt, d. h. durch 0,34 Immunitäts-Einheiten, wenn das Serum unmittelbar nach dem Gift eingespritzt wurde. Ein Kaninchen, welches nur 0,28 I. E. bekam, erlag am 11$^{ten}$ Tage der Vergiftung. Demnach liegt bei den Versuchen mit der 7 fachen Giftdosis die neutralisirende Serumdosis zwischen 0,28 und 0,34, und wird etwa 0,3 I. E. betragen. Eine noch genauere Einstellung wäre ohne sehr bedeutende Opfer an Thieren nicht möglich gewesen und wurde unterlassen, weil sie für meine Zwecke nicht nöthig war.

Um für die weiteren Versuche eine bequeme Grundlage zur Vergleichung zu gewinnen, berechnen wir hieraus den Werth, welche die einfache lethale Dosis neutralisiren würde. Er stellt sich also auf den 7$^{ten}$ Theil von 0,3, d. h. auf 0,043 I. E.

Denselben Werth ergab auch die Einführung von *Gift und Serum in umgekehrter Reihenfolge.* Ein Kaninchen, welches der Berechnung nach die 30 fache neutralisirende Einheit und unmittelbar darauf die 30 fach tötliche Giftdosis erhielt, kam glatt davon, während diejenigen starben, welche etwas weniger Serum erhalten hatten.

Für eine Vergiftung mit der 60 fachen tötlichen Dosis würde man der Berechnung nach 2,58 I. E. zur Neutralisation gebrauchen. Der directe Versuch, bei welchem erst Gift, dann Serum eingespritzt wurde, ergab 2,5 I. E., also eine Zahl, welche mit der berechneten übereinstimmt.

Die hier erwähnten Versuche, welche zur Ermittelung der Neutralisationdosis für die 7 fache und die 60 fache tötliche Giftdosis dienten, sind in Tabelle II zusammengestellt.

TABELLE II. — *Vergiftung mit der 7 fachen und der 60 fachen tötlichen Dosis. Danach sofort die angegebenen Serummengen ausgedrückt in Immunitäts-Einheiten.*

| 7 × | | 60 × | |
|---|---|---|---|
| Serummenge I. E. | Erfolg | Serummenge I. E. | Erfolg |
| 0,85 | 0 | 4,5 | 0 |
| 0,56 | 0 | 3,4 | 0 |
| 0,425 | 0 | 2,5 | 0 |
| 0,34 | 0 | 1,7 | 0; 5 |
| 0,28 | 11 | 1,3 | 3 |

Die hier mitgetheilten Werthe zeigen zugleich, dass nicht nur bei der Mischung im Glase, sondern auch *bei der Mischung im Thierkörper zur Neutralisation eines beliebigen Multiplums der tötlichen Minimaldosis des Giftes ein eben so hohes Multiplum der neutralisirenden Dosis des Heilserums nöthig ist.* Es verhalten sich also Toxin und Antitoxin zu einander wie Säure zur Basis; ihre Neutralisation erfolgt im *Verhältniss der chemischen Proportion,* vorausgesetzt dass beide gleichzeitig dem lebenden Thiere intravenös zugeführt werden.

Weiter handelte es sich nun darum, zu sehen, *wie schnell* das Gift im lebenden Körper gebunden wird, und bis zu welchem Zeitpunkt man es mit der neutralisirenden Dosis (oder einem geringen Plus an Serum) noch extrahiren kann. Die in Tabelle III und IV zusammengestellten Versuche geben darüber Auskunft. Tabelle III bezieht sich auf Vergiftungen mit der 7 1/2 fachen tötlichen Minimaldosis. Die entsprechende neutralisirende Serumdosis wurde dann nach verschieden langer Zeit, 10, 15, 20 Minuten u. s. w. gegeben, und wenn diese Dosis nicht ausreichte, allmählich bis zum 10 fachen Multiplum derselben gestiegen.

Tabelle IV bezieht sich auf eben solche Extractionsversuche bei 15 facher Vergiftung.

TABELLE III. — *Extractionsversuch bei 7 1/2 facher Vergiftung.*

(Dosis neutralisans : 1/200 Serum 4 c.c. = 0,34 I. E.)

| Zwischenzeit in Minuten | 0,34 I. E. | 0,425 | 0,57 | 0,85 | 3,4 I. E. |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | — |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | — |
| 15 | 0 | 4 | 0 | 0 | — |
| 20 | — | 8 | — | — | 0 |
| 30 | — | — | 0 | 11 | 0 |
| 40 | — | — | — | — | 13 |
| 45 | — | — | — | — | 7 |
| 60 | — | — | — | — | 9;6 |

TABELLE IV. — *Extractionsversuch bei 15 facher Vergiftung, mit der 2 1/2 fach u. 5 fach neutralisirenden Dosis = 1,7 und 3,4 I. E.*

| Zwischenzeit in Minuten | 1,7 I. E. | 3,4 I. E. |
|---|---|---|
| 0 | 0 | — |
| 10 | 0 | 0 |
| 15 | 4 | 0 |
| 30 | — | 0 |
| 45 | — | 2 |
| 60 | — | 3 |

Die erste Versuchsreihe der Tabelle III zeigt, dass bei 7 facher Vergiftung die neutralisirende Serummenge selbst dann noch schützt, wenn sie erst 10 Minuten später gegeben wird; darüber hinaus aber, nach 15 Minuten, nicht mehr. Das heisst mit anderen Worten : *Nach 15 Minuten ist sicher die einfach tötliche Giftdosis von den Geweben gebunden.*

Wählt man indessen noch stärkere Vergiftungen, z. B. mit der 60 fach tötlichen Dosis, so erfolgt die feste Bindung des Giftes erheblich schneller. Eine darauf bezügliche Versuchsreihe ergab, dass das nach 7 Minuten gegebene 3 fache Multiplum der neutralisirenden Serumdosis. (welche nicht nur berechnet, sondern auch durch directe Versuche ermittelt war), das Gift nicht mehr zu extrahiren vermochte; ja schon nach 2 Minuten genügte sie nicht mehr; die beiden Versuchsthiere, welche das Serum (die 3 fache neutralisirende Dosis) nach 2 Minuten erhalten hatten, starben nach 6 und nach 9 Tagen an Diphtherievergiftung. *Es war also nach 2 Minuten schon wenigstens die einfach tötliche Dosis aus dem Blute verschwunden.*

In den Tabellen übersieht man mit einem Blick, dass die zur Bindung des Giftes nöthige Serummenge mit der Zeit, welche man zwischen der Vergiftung und der Anwendung des Serums vergehen lässt, zwar erheblich wächst, indessen genügt doch nach 30 Minuten noch die 5 bis 10 fache Dosis neutralisans. Darüber hinaus treten ganz andere Verhältnisse in die Erscheinung, denn bei 45 Minuten Zwischenzeit vermochten 1850 I. E. nicht mehr, die mit der 15 fachen Dosis vergifteten Thiere zu retten. 1850 I. E. betragen aber mehr als das 500 fache des Serumdosis, die bei 30 Minuten noch ausreichte, und es kam auf 1 gr. Thier eine volle Immunitäts-Einheit.

Ein so kolossaler Sprung muss eine ganz besondere Bedeutung haben, die nur darin liegen kann, dass *3/4 Stunden nach der* (15 fachen) *Vergiftung eine so feste Bindung des Giftes eingetreten ist, dass eine Lockerung desselben nicht mehr möglich ist.*

Wir haben also mit diesen Versuchen bei 15 facher Vergiftung ***zwei Zeitpunkten*** festgelegt, welche bei etwa 10 und 30 Minuten liegen. Nach ungefähr 10 Minuten ist eine ***einfach tötliche Dosis*** von den toxophilen Stoffen der Gewebe gebunden; aber sie ist ***so locker gebunden***, dass sie schon von verhältnissmässig geringen Serummengen wieder aus der Verbindung gelöst und neutralisirt werden kann. Dieser Zustand dauert etwa eine halbe Stunde an und geht dann, wie es scheint ziemlich plötzlich, in den ***Zustand der festen Bindung über, wo selbst enorme Antitoxinmengen das Gift nicht mehr aus seiner Verbindung auszutreiben vermögen.***

Die gefundenen Werthe beziehen sich indessen nur auf eine 15 fache Vergiftung. Bei 60 facher Vergiftung ist der Zeitpunkt der festen Bindung viel schneller erreicht, denn schon nach 14 Minuten gelang es nicht mehr, das Thier zu retten, trotz Anwendung kolossaler Serummengen. Bei 7 Minuten gelang dies noch, während die Extraction mit der 3 fachen neutralisirenden Dosis schon nach 2 Minuten versagte, wie oben mitgetheilt wurde. Bei leichteren Vergiftungen erhält man dagegen viel günstigere Zahlen, wie Tabelle V ergiebt. Man sieht daselbst, dass man bei einer halb so schweren (7 fachen) Vergiftung die Thiere noch nach 1—1 1/2 Stunden retten kann; und in dem Maasse, als man die Giftdosis verringert, vergrössert sich die Wirkungsbreite des Serums, so dass man bei 1 1/5 facher Vergiftung noch nach 6, unter Umständen sogar noch nach 8 Stunden das Leben retten kann.

TABELLE V. — *Heilungsversuche mit 5 c.c. Vollserum = 1850 I. E.*

| Zwischenzeit | Vergiftung | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 15 × | 7 × | 4 × | 2 1/2 × | 1 1/5 × |
| 45 Min. | 2 | — | — | — | — |
| 55 » | 6 | — | — | — | — |
| 1 Stunde | 3 | 0 | 0 | — | — |
| 1 1/2 » | — | 0; 5 | — | — | — |
| 1 3/4 » | — | 2; 5 | — | — | — |
| 2 » | — | 4; 2 | 0 | 0 | — |
| 2 1/2 » | — | 2 | — | — | — |
| 3 » | — | 2,2 | 5 | 0 | — |
| 4 » | — | — | 7 | 8 | 0 |
| 6 » | — | — | 2 | 5 | 0 |
| 7 » | — | — | — | — | 10 |
| 8 » | — | — | — | — | 0 |
| 10 » | — | — | — | — | 6; 7 |

Bei so schwachen Vergiftungen (mit 1 1/5 der tötlichen Minimaldosis) dauert auch die lockere Bindung, und damit die Extractionsfähigkeit des Giftes etwas länger an, aber doch kaum bis zu einer Stunde, wie durch

besondere Versuche festgestellt wurde, die ich indessen hier nicht weiter tabellarisch aufführen will. Der Umschlag von der lockeren Bindung in die feste erfolgt also hier nicht plötzlich, sondern ganz allmählich.

Im Hinblick auf die Versuche von HEYMANS mit *Malonnitril* möge noch besonders hervorgehoben werden, dass mit der Schwere der Vergiftung sich auch der zeitliche Verlauf ändert. Je höher die Giftdosis gewählt wird, um so schneller erfolgt die Bindung der einfachen tötlichen Dosis, so dass bei 60 facher Vergiftung dieser Zeitpunkt schon nach 2 Minuten sicher erreicht ist; bei 7 facher Vergiftung liegt er etwa bei 15 Minuten.

Die Ergebnisse der hier mitgetheilten Versuche möchte ich in folgender Weise zusammenfassen.

1. Das Diphtheriegift wird in auffallend kurzer Zeit von den toxophilen Seitenketten aus dem Blute herausgerissen und gebunden. Je stärker die Vergiftung, um so schneller die Bindung.

2. Die Festigkeit der Bindung ist anfänglich eine lockere, nimmt aber sehr bald der Art zu, dass es nicht mehr gelingt, sie durch ausserordentlich grosse Antitoxinmengen zu sprengen. Während bei schweren Vergiftungen das Affinitäts-Maximum nach wenigen Minuten erreicht ist, kann es bei Anwendung der einfach tötlichen Dosis 6—8 Stunden dauern.

3. Um sich eine Vorstellung von der gewaltigen Menge Heilserum zu machen, welche nach den angegebenen Fristen das Gift nicht mehr zu lockern vermochte, ist es zweckmässig, die Zahlen auf den Menschen zu berechnen Es wurde in maximo so viel Antitoxin gegeben, dass auf 1 gr. Thier eine Immunitäts-Einheit intravenös verbraucht wurde. Für ein diphtheriekrankes Kind von 20 kgr. würde das 20,000 Immunitätseinheiten betragen, während im Durchschnitt nur etwa 1000 zur Anwendung kommen und sogar bei subcutaner Anwendung völlig ausreichen.

4. Wenn man die für das Diphtheriegift geltenden Zahlen mit denen vergleicht, welche ich bei entsprechenden Versuchen mit Tetanusgift gefunden habe, so sprechen sie zu Ungunsten des Diphtheriegiftes, denn bei leichter Tetanusvergiftung gelang die Heilung noch nach 20 Stunden.

5. In der Praxis liegen die Verhältnisse gerade umgekehrt. Wir wissen, dass ausgesprochene Diphtherie beim Menschen der Heilwirkung des Antitoxins leicht zugänglich ist, während Tetanusserum, dessen Heilwirkung im strengsten Sinne des Wortes ich nachweisen konnte, gar zu häufig im Stiche lässt. Hierfür lässt sich jetzt leicht eine Erklärung finden. Es entspricht vollkommen unseren theoretischen Anschauungen, wenn

wir annehmen, dass zu der Zeit, wo die Diphtheritis deutlich in die Erscheinung tritt, noch nicht eine einfach tötliche Giftdosis *fest* gebunden ist; dagegen muss dieses sehr häufig schon dann der Fall sein, wenn die Symptome gestatten, die Diagnose auf Tetanus zu stellen.

Hieraus erklären sich auch die vielen Misserfolge, welche man mit der Anwendung der von ROUX und BORREL angegebenen intracraniellen Anwendung des Antitoxins erfahren hat. Wenn der Fall so liegt, dass das Affinitätsmaximum erreicht ist, so kann es auch nichts nützen, wenn es selbst gelingen sollte, das Gegengift direct alle die Zellen umspülen zu lassen, in denen das Gift verankert ist.

6. Davon, dass für die *ärztliche Praxis* die Verhältnisse bei der Diphtherie viel *günstiger* liegen als für die *intravenöse Vergiftung*, habe ich mich auch durch Experimente überzeugt, in welchen Meerschweinchen mit lebenden Kulturen inficirt worden waren. Da ich hierüber schon auf dem Congress in Madrid 1898 berichtet habe, gehe ich hier nicht weiter darauf ein.

7. Meine hier mitgetheilten Versuche, sowie diejenigen über Tetanus, stehen im besten Einklange mit denjenigen, welche HEYMANS mit *Malonnitril* angestellt hat. HEYMANS fand, dass dieses Gift so ausserordentlich schnell aus dem Blute verschwindet, dass die unmittelbar nach der Vergiftung entbluteten Thiere trotzdem der Vergiftung erlagen. Die weitere Folgerung, dass die *Latenzperiode* bei Vergiftungen nicht dadurch bedingt wird, dass das Gift zu dieser Zeit etwa noch nicht gebunden ist, sondern vielmehr *dadurch, dass es, trotz seiner Bindung an lebenswichtige Zellen, auf diese noch keine derartige Wirkung ausübt, dass die Vergiftung äusserlich in die Erscheinung träte,* ergiebt sich mit zwingender Nothwendigkeit auch aus meinen Versuchen.

8. Wenn HEYMANS die Bindung des *Malonnitrils* schon unmittelbar nach der Vergiftung nachweisen kann und glaubt, dass dasselbe auch für Bakteriengifte statt hat, so widersprechen dem keineswegs meine Versuche mit der 7 und 15 fach tötlichen Vergiftung, welche ergaben, dass nach 10—15 Minuten, also merklich später, eine einfach tötliche Dosis gebunden ist. Est ist danach möglich, aber aus diesen Versuchen nicht abzuleiten, das schon vor dieser Zeit die einfach tötliche Dosis von den Geweben fixirt ist, dann aber in so lockerer Bindung, dass die einfach neutralisirende Dosis sie noch zum Theil wenigstens den Geweben entziehen und dadurch den Tod der Thiere verhüten kann. Bei sehr schwerer (60 facher) Vergiftung ergiebt sich auch bei meiner Versuchsanordrung, dass die einfach tötliche Dosis schon nach 2 Minuten gebunden ist.

9. Eine durchaus befriedigende Erklärung der Incubationsperiode hat EHRLICH gegeben (1), indem er annimt, dass *Bindung* und *Toxicität* durch zwei verschiedene chemische Gruppen bedingt werden, von denen die eine, die *haptophore*, sofort in Thätigkeit tritt und das Gift an die lebende Zelle verankert, während die *toxophore* Gruppe ihre Einwirkung auf die Zelle langsam entfaltet, so dass die specifische Giftwirkung erst nach einer *Latenzperiode* in die Erscheinung treten kann.

10. Begründet wurde diese Anschauung zum Theil durch Thierversuche, welche Herr Dr. MORGENROTH an kalt und warm gehaltenen Fröschen im hiesigen Institute angestellt hat. Sie haben aber auch für Warmblüter Giltigkeit, wie die von BILLINGER (2) an Winterschläfern angestellten Versuche beweisen, mit denen meine eigenen Versuche an Winterschläfern, über welche ich demnächst eingehender zu berichten gedenke, in erfreulicher Weise übereinstimmen.

*Januar 1899.*

---

(1) F. EHRLICH : *Constitution des Diphtheriegiftes.* Deutsche Med. Woch., 1898, N° 38.

(2) O. BILLINGER : *Winterschlaf und Infection.* Wien. klin. Rundschau, 1896, N° 45.

Travail du laboratoire de médecine expérimentale de l'Université de Lyon.

# Étude sur le sérum antidiphtérique et son action antitoxique

PAR

S. ARLOING.

L'usage exclusif du cheval pour la préparation du sérum antidiphtérique a mis sur le tapis la question de la toxicité du sérum normal.

Roux avait déclaré que le choix du cheval était basé non seulement sur la facilité que l'on éprouvait à immuniser cet animal et à obtenir le sang en grande quantité après immunisation, mais encore sur la faible toxicité du sérum normal, propriété permettant d'introduire dans l'organisme des enfants atteints de diphtérie de la substance antitoxique dégagée au maximum des poisons contenus dans le sang.

Cette déclaration, reposant sur les recherches de plusieurs expérimentateurs, n'a pas empêché certaines clameurs de s'élever contre le sérum antidiphtérique, accusant ce dernier de produire les complications plus ou moins redoutables qui peuvent accompagner la diphtérie ou la convalescence.

Dès le mois de mars 1895, j'ai tenu à me faire une opinon sur les accusations portées contre le sérum de cheval. J'ai étudié et j'ai fait étudier autour de moi, à divers points de vue, la toxicité du sérum de cheval normal et de cheval immunisé contre la diphtérie, moins pour découvrir des qualités nocives, dont l'existence ne me paraissait pas douteuse, que pour apprécier leur degré d'influence sur la santé des enfants traités par le sérum antidiphtérique.

Quelques auteurs avaient cherché le degré de toxicité du sérum sanguin du cheval en bonne santé ou du cheval frappé de certaines maladies, mais on n'avait pas comparé le sérum thérapeutique au sérum normal.

En outre, mes prédécesseurs m'avaient paru exclusivement préoccupé de la détermination de l'unité de toxicité du sérum à doses massives.

Sur le terrain où je voulais me placer, leur procédé ne pouvait me donner satisfaction.

Je trouve d'ailleurs que l'on abuse des injections massives, dans l'étude de la toxicité. On semble perdre de vue que la mort peut résulter de doses très inférieures à l'unité de toxicité. Le dénoûment dans ce cas se fait attendre davantage que dans l'autre; voilà toute la différence.

Or, ce sont surtout ces intoxications lentes qu'il nous importait de connaître.

Ajoutons qu'il est des intoxications lentes qui troublent les fonctions de l'organisme plus ou moins vivement, plus ou moins longtemps, sans entraîner la mort. Elles sont dues à l'administration répétée d'une très petite dose de poison. Ce cas peut se présenter à la suite d'une diphtérie ayant exigé l'emploi de plusieurs injections de sérum.

Tenant à me placer dans des conditions voisines de celles de la pratique, j'ai opéré avec des doses hypotoxiques. J'ai cherché la différence de leur nocuité, suivant qu'elles sont introduites dans le sang ou dans le tissu conjonctif. J'ai tenté de saisir, par l'examen des troubles apportés aux grandes fonctions, en recourant au besoin à la méthode graphique, les propriétés du sérum normal et du sérum thérapeutique. J'ai étudié, enfin, la modification imprimée à la nutrition par des doses du sérum non mortelles mais répétées.

Dans une dernière partie, j'apporte des éléments à la solution de la question encore si obscure du mécanisme des effets antitoxiques du sérum, sinon à celle de l'action antitoxique.

## I. — Toxicité du sérum de cheval normal et de cheval immunisé.

Plusieurs expérimentateurs ont tenté de déterminer la toxicité du sérum de cheval en l'injectant au lapin. Le choix ne fut pas heureux. Cadiot et Roger ont affirmé que le sérum du cheval n'est pas toxique pour le lapin parce qu'ils avaient observé qu'une injection intraveineuse de 40 à 45 c.c. par kilogramme ne produisait aucun trouble (1). Dumarest et Guinard, dans mon laboratoire, ont injecté 153 et 203 c.c. de sérum de

(1) Traité de pathologie générale, par Ch. Bouchard, t. I, p. 770.

sang du cheval sain par kilogramme de poids vif dans les veines du lapin, sans déterminer immédiatement la mort. Mais dans un autre essai, le sérum, isolé du caillot, conservé au frais, limpide et sirupeux, attiédi au moment de l'injection, a tué un lapin à la dose de 324 c.c. par kilogramme. Après avoir reçu les deux tiers environ de la dose mortelle, le lapin a présenté des mictions fréquentes et abondantes, des tremblements et du mâchonnement (1). LECLAINCHE et RÉMOND ont constaté une toxicité plus élevée, puisqu'ils ont tué le lapin sur le champ avec 119 c.c. de sérum par kilogramme (2).

De ces résultats, et malgré leur diversité, on reste convaincu que le lapin n'est pas absolument indifférent aux poisons contenus dans le sérum du cheval, mais qu'il y est peu sensible. A raison de cette considération, j'ai pensé qu'il était préférable de me servir du chien pour étudier la toxicité et surtout celle des doses hypotoxiques des sérums retirés du cheval, et qu'il fallait tenter encore des expériences sur le lapin.

**Injection dans les veines.**

Dans une première série d'essais, le sérum fut injecté dans le sang veineux avec lenteur (moins de 1 c.c. par minute), à l'aide d'une pipette de MOHR prolongée par un tube de caoutchouc portant à son extrémité libre une fine canule que l'on implantait indirectement dans la veine faciale (chien) ou dans la veine jugulaire (lapin).

Je répéterai que j'ai fait usage de doses relativement faibles et, néanmoins, j'ai causé une maladie par intoxication qui souvent a entraîné la mort. C'était, à mon avis, le seul moyen de bien connaître les troubles que peuvent engendrer les poisons contenus dans le sérum sanguin.

*Sérum antidiphtérique.* — La dose que j'ai d'abord injectée dans la jugulaire du *chien* a été de 6 gr. par kilogramme de poids vif.

Deux *chiens* ayant reçu du sérum antidiphtérique à cette dose ont succombé au bout de 24 à 36 heures. Un troisième ayant reçu 12 c.c. par kilogramme de poids vif a survécu.

Les phénomènes post-opératoires se déroulent de la manière suivante :

Quand l'injection est terminée, les animaux ne tardent pas à donner des signes non équivoques de douleurs abdominales, accompagnées de selles semi-fluides ou diarrhéiques, parfois sanguinolentes, toujours fétides. Ils présentent aussi des vomissements. Les matières expulsées de l'estomac

(1) Communication orale.

(2) Société de Biologie, 23 décembre 1893.

sont rouges ou striées de sang. Parfois, les troubles intestinaux commencent avant la fin de l'injection; ils éclosent en même temps qu'une hypersécrétion salivaire.

Pendant que ces phénomènes se déroulent, les sujets sont tristes, couchés et enroulés en cercle, le regard plus ou moins larmoyant, le tronc ou les membres agités de légers frissons, en proie à un état fébrile très accusé. Les frissons continuent malgré la cessation des évacuations alvines. Lorsque les animaux succombent, ils meurent en hypothermie.

A l'autopsie des *chiens* qui meurent à la suite des injections de sérum, on ne rencontre pas de lésions très remarquables. La rate est tuméfiée et violacée; la muqueuse gastrique et celle de l'intestin grêle sont légèrement congestionnées; les cavités du cœur remplies de caillots foncés.

*Sérum normal.* — Deux *chiens* reçurent dans les veines, l'un 5 c.c., l'autre 6 c.c. de sérum de cheval normal, par kilogramme de poids vif. Ces animaux présentèrent une réaction fébrile aussi grande que les précédents; mais ils n'offrirent pas un état de tristesse aussi navrant que les chiens empoisonnés par le sérum antidiphtérique; ils ne présentèrent non plus ni évacuation alvine, ni vomissement, ni salivation. Bref, ils parurent un peu moins malades que les précédents.

Comme je l'ai dit précédemment, j'ai injecté du *sérum antidiphtérique* dans la jugulaire de *deux lapins*. A un premier sujet, pesant 1610 gr., j'ai poussé 6 c.c. par kilogramme de poids vif; à un second, pesant 2140 gr., j'ai poussé 3 c.c. par kilogramme. Les injections ont été faites le 20 mai 1895. Le second lapin a survécu; le premier est mort pendant la nuit du 23 au 24 mai.

La mort survenue dans cette expérience doit être attribuée à la toxicité du sérum et non à l'action du sérum sur le sang, action coagulante, comme l'admettent quelques auteurs; car, s'il en était autrement, elle aurait dû se produire aussi bien après l'injection de 3 c.c., qu'après l'injection de 6 c.c.

Le sérum du cheval possède donc, dans des cas nombreux, des propriétés toxiques remarquables auxquelles le lapin lui-même n'échappe pas. Mais les qualités du sérum de cheval varient avec sa provenance, puisque j'ai vu tel sérum entraîner la mort du chien à la dose de 6 c.c. par kilogramme, alors que tel autre, à la dose de 12 c.c. par kilogramme, laissait survivre le sujet d'expérience. J'ajouterai qu'un même sérum n'entraîne pas nécessairement les mêmes désordres sur des sujets différents. Cependant, quelle qu'ait été l'origine du sérum, j'ai toujours assisté à l'éclosion de troubles qui ont apparu immédiatement et se sont écoulés à

la façon des symptômes d'un empoisonnement plus ou moins grave. Il ne m'est pas possible de dire si le sérum antidiphtérique est plus ou moins toxique que le sérum de cheval normal. Mais j'ai constaté, après d'autres observateurs, que le sérum ayant séjourné un certain temps sur le caillot, au point d'apporter de l'hémoglobine en solution, est sinon plus meurtrier au moins plus perturbateur que le sérum citrin décanté immédiatement après la rétraction du caillot.

**Injection dans le tissu conjonctif sous-cutané.**

Si le sérum du cheval est capable d'entraîner la mort à faibles doses par injection intraveineuse, il détermine des troubles légers lorsqu'il est introduit, aux mêmes doses, dans le tissu conjonctif sous-cutané.

En voici deux exemples :

1° *Chien,* bonne santé, très gai et très agile. Température rectale : 38°6.

On lui injecte sous la peau du *sérum de cheval normal,* à la dose de 6 c.c. par kilogramme de poids vif.

La température s'est modifiée comme suit dans les premières heures qui succédèrent à l'injection :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Au bout de la | 1re | heure : | 39°3 |
| » | 2e | » | 39°3 |
| » | 3e | » | 39°4 |
| » | 4e | » | 39°6 |
| » | 5e | » | 39°4 |
| » | 6e | » | 39°2 |
| » | 7e | » | 39°1 |
| » | 8e | » | 39°1 |

Entre la première et la deuxième heure, s'est manifesté un réveil un peu anormal de l'intestin et de la vessie.

A partir de la deuxième heure, le chien s'est montré triste, abattu et a présenté souvent des frissons ou des tremblements.

Le lendemain, il a repris les apparences de la santé. La température oscille entre 38°7 en 38°1. Les points où furent poussées les injections présentent une légère sensibilité anormale.

2° *Chien,* jeune, en bonne santé. Température : 37°.

On lui injecte sous la peau 6 c.c. de *sérum antidiphtérique* par kilogramme de poids vif.

La température subit les modifications suivantes :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Au bout de la | 1re | heure : | 38°7 |
| » | 2e | » | 38°2 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Au bout de la | 3e | heure : | 39°2 |
| » | 4e | » | 39°1 |
| » | 5e | » | 39°6 |
| » | 6e | » | 39°7 |
| » | 7e | » | 39°6 |
| » | 8e | » | 39°7 |
| » | 9e | » | 39°1 |
| » | 10e | » | 39°2 |

A partir de la première heure, l'animal est agité de petits frissons; il est triste, en proie à une certaine prostration des forces; ses yeux sont larmoyants.

Le lendemain, tous ces troubles ont entièrement disparu; l'animal possède les apparences de la santé. On le conserve longtemps dans le laboratoire.

Dans cette série encore, il ne m'a pas été possible de trouver une différence sensible entre le sérum normal et le sérum antidiphtérique.

Dans tous les cas, une dose capable de tuer le chien dans l'espace d'un jour ou deux par la voie veineuse détermine seulement un trouble éphémère lorsqu'elle pénètre par absorption dans le tissu conjonctif.

## II. — Troubles apportés à la nutrition par l'usage de doses non mortelles de sérum.

Si l'injection du sérum normal ou antidiphtérique dans le tissu conjonctif sous-cutané n'entraîne qu'un trouble éphémère, elle atteint néanmoins les phénomènes de la nutrition, comme on peut s'en assurer en étudiant le développement des jeunes animaux soumis à des injections répétées ou les modifications de la sécrétion urinaire après une ou plusieurs injections.

### Troubles apportés au développements des jeunes sujets.

J'ai poursuivi l'étude de ces troubles sur de jeunes cobayes.

Des animaux à peu près de même âge et de même poids sont divisés en lots. Un lot est gardé intact pour servir de témoin, les sujets des autres lots reçoivent tous les jours, sous la peau, une dose de sérum représentant 0,0005 et 0,000029 de leur poids. Tous les animaux sont pesés plusieurs fois au cours de l'expérience, puis lorsqu'elle prend fin.

On injecte comparativement sur des animaux différents du sérum de cheval normal et du sérum antidiphtérique.

*Usage du sérum normal.* — Dans une expérience faite avec du sérum de

cheval normal, les cobayes d'un lot reçoivent, pendant un mois, $^1/_{1000}$ de leur poids, chaque jour, et pendant les cinq semaines suivantes, un demi millième; ceux d'un autre lot, pendant trois semaines, $^1/_{1000}$ et pendant cinq semaines, un tiers de millième.

A la fin de l'expérience, tous les sujets paraissent en bon état. Cependant les lots soumis à l'action du sérum n'ont pas pris le même développement que le lot témoin. Bien plus, l'atteinte portée à la croissance et à l'embonpoint est le plus accusée chez les cobayes qui ont été soumis au sérum pendant le temps le plus long.

Ainsi, le lot témoin s'est accru dans la proportion de 34,28 %, le second lot (9 semaines), dans la proportion de 15,82 %, le troisième lot (8 semaines), dans la proportion de 19,07 %.

*Usage du sérum antidiphtérique.* — Dans une autre expérience, un lot sert de témoins, les sujets d'un autre lot reçoivent chaque jour, pendant 45 jours, un demi millième de sérum antidiphtérique immunisant 50000 fois son poids.

A la fin de l'expérience, le poids du premier lot s'est accru de 50 %, celui du second lot (animaux imprégnés de sérum) a augmenté seulement de 44 % du poids primitif.

Résumons le résultat de ces expériences dans le tableau suivant :

| LOTS | 1re EXPÉRIENCE (*sérum normal*) | | |
|---|---|---|---|
| | Quantité totale de sérum injecté | Durée des injections | Augmentation de poids |
| 1er | 0 | | 34,28 % |
| 2e | 48/1000 | 68 jours | 15,82 % |
| 3e | 36/1000 | 68 jours | 19,07 % |
| | 2e EXPÉRIENCE (*sérum antidiphtérique*) | | |
| 1er | 0 | | 50 % |
| 2e | 22/10000 | 45 jours | 44 % |

Le sérum normal de cheval et le sérum antidiphtérique, administrés quotidiennement, pendant longtemps, exercent donc une influence retardante non douteuse sur la croissance des jeunes cobayes. L'influence est d'autant plus accusée que le sérum a été injecté pendant plus longtemps et à dose plus considérable.

Faisons remarquer toutefois que l'injection quotidienne la plus forte n'a jamais dépassé $^1/_{1000}$ du poids des cobayes, c'est-à-dire la quantité moyenne du sérum antidiphtérique injectée en une fois à un enfant atteint de diphtérie.

Faisons encore remarquer que le sérum antidiphtérique s'est comporté à peu près de la même manière que le sérum normal.

Nous conclurons provisoirement de ces expériences que le traitement par le sérum antidiphtérique. comprenant une, deux ou trois injections. ne peut être accusé légitimement de troubler profondément la nutrition des jeunes convalescents, pas plus qu'on ne pourrait attribuer à l'introduction sous-cutanée du sérum une influence dans le rétablissement de l'embonpoint.

**Troubles apportés à la sécrétion urinaire.**

Les modifications imprimées à la nutrition ayant un retentissement sur la sécrétion urinaire, nous avons été conduit à étudier les changements apportés à l'élimination des principes essentiels de l'urine par l'injection sous-cutanée du sérum antidiphtérique.

Depuis que nous avons commencé nos recherches, quelques travaux ont été publiés sur le même sujet.

SIEGERT a observé une diminution de la quantité des urines chez le lapin après les injections de sérum de cheval non immunisé ou immunisé.

En 1895, KARLINSKI(1) a étudié sur lui-même l'influence des injections de sérum antidiphtérique. D'après cet auteur, elle serait à peu près insignifiante sur l'azote total de l'urine; elle entraînerait simplement une augmentation légère et passagére de l'urée, de l'acide urique et de la créatinine.

La même année, ZAGARI et CALABRESI, JOHANNESSEN déclarent que le sérum antidiphtérique ne produit pas de troubles nutritifs dignes d'être mentionnés.

MYA(2), MONGOUR, VARIOT et COCHINAL(3) auraient vu le sérum antidiphtérique produire une azoturie et une phosphaturie chez les enfants sains.

POIX, en 1896, constate que le sérum normal ou antidiphtérique cause, chez le lapin, une augmentation faible et temporaire dans l'élimination de l'azote.

DESGREZ(4) a trouvé, au contraire, que le sérum antidiphtérique est capable de troubler notablement la composition de l'urine, sur le

(1) KARLINSKI : Wiener medic. Wochenschr., 1895.

(2) MYA : La Sperimentale, 1895.

(3) VARIOT et COCHINAL : *La diphtérie et le sérumthérapie*, par VARIOT, Paris, 1898.

(4) DESGREZ : *Influence des sérums sur les variations de quelques éléments urinaires*, Paris, 1895.

lapin. A dose légèrement supérieure à la dose thérapeutique employée sur l'enfant, le sérum déterminerait une augmentation de l'urée et des chlorures et quelquefois des phosphates. Enfin, dans certains cas très rares à la vérité, il provoquerait encore une légère albuminurie.

Le travail le plus important que nous connaissions a été publié par DECROLY (1), en 1898.

M. DECROLY a étudié, sur le lapin, l'action du sérum antidiphtérique administré isolément, ou bien associé à la toxine diphtérique, ou bien encore avant ou après cette dernière.

Il résulte des expériences de DECROLY que les injections sous-cutanées de sérum antidiphtérique, à la dose de 1/2 à 2 1/2 c.c., modifient à peine les urines.

L'auteur conclut, en définitive, que les antitoxines sont sans influence sur les phénomènes intimes de l'assimilation et de la désassimilation. Cependant il reconnaît que le sérum peut nuire passagèrement à la sécrétion urinaire par les substances organiques ou minérales qu'il renferme à côté de l'antitoxine; mais il ne précise pas l'action nuisible qu'il admet hypothétiquement.

De mon côté, j'ai poursuivi des expériences sur le chien, avec le concours successif de M. PAYET et de M. CHEVROTIER, deux de mes préparateurs à l'Université.

Le sérum antidiphtérique était injecté sous la peau, à deux ou trois reprises, à 4 ou 5 jours d'intervalle, à la dose de 1 c.c. par kilogramme de poids vif. Les sujets étaient enfermés dans une cage *ad hoc* pour recueillir l'urine au fur et à mesure de son émission. Avant de commencer les expériences, on cherchait à obtenir l'équilibre nutritif des animaux. Ils étaient alimentés exclusivement avec de la soupe. La quantité qu'ils recevaient, déterminée par une pratique de plusieurs jours, pouvait entretenir leurs poids sans perte ni gain. Lorsque ce premier résultat était obtenu, on procédait quotidiennement à l'analyse des urines, et, à des jours déterminés, on injectait le sérum dans le tissu conjonctif sous-cutané.

L'urée était dosée dans l'appareil DANNECY à l'aide de l'hypobromite de soude. Les chlorures étaient mesurés par le procédé MOHR en se servant de la solution décinormale de nitrate d'argent. Quant au dosage des phosphates, on le faisait d'après la méthode de NEUBAUER basée sur la précipitation des phosphates par l'acétate d'urane.

(1) DECROLY : *Action des toxines et antitoxines sur la nutrition générale*. Archives de Pharmacodynamie, 1898.

Les expériences ont fait ressortir les modifications suivantes :

*a)* Première injection; 1 c.c. par kilogramme de poids vif. — Diminution de la *quantité d'urine* le lendemain, retour à la normale dans les deux journées subséquentes.

La *quantité absolue* des *chlorures* subit une brusque et notable diminution le premier jour ; celle des *phosphates* et de l'*urée* ne change guère à proprement parler, mais se maintient à un taux minimum. Les deux jours suivants, la quantité absolue de ces divers principes se relève un peu vers la normale, sauf pour les phosphates qui restent encore peu abondants.

*b)* Deuxième injection de 1 c.c. par kilogramme de poids vif. — Légère augmentation de la quantité d'urine le lendemain, diminution graduelle pendant les cinq journées suivantes.

Encore une diminution de la *quantité absolue* des *chlorures* le premier jour, mais plus faible qu'à la suite de la première injection; diminution aussi de la quantité des *phosphates* et de l'*urée*. Ultérieurement, les chlorures, les phosphates et l'urée augmentent et ces deux derniers dépassent même la quantité qui existait à l'état normal.

*c)* Une troisième injection produit des modifications analogues : Augmentation de la quantité d'urine les deux premiers jours, diminution relative et absolue les trois jours suivants. Diminution, pendant 24 heures, de la quantité absolue de l'urée, des phosphates et des chlorures; puis augmentation toujours croissante de l'urée, tandis que les phosphates oscillent considérablement, allant des quantités maxima aux quantités minima, et que les chlorures varient tout en se maintenant dans des proportions subnormales.

Les modifications des quantités relatives des trois éléments essentiels de l'urine (pour un litre) sont de même ordre que celles des quantités absolues. La proportion de ces éléments diminue plus ou moins après chaque injection pour augmenter ensuite et, de plus en plus, avec le nombre des injections.

On appréciera facilement les modifications absolues ou relatives en jetant les yeux sur la figure 1.

En résumé, lorsqu'on pousse une injection de sérum dans le tissu conjonctif, à raison de 1 c.c. par kilogramme de poids vif, on provoque une polyurie passagère ainsi qu'une diminution relative et absolue dans l'élimination de l'urée, des phosphates et des chlorures. Ces troubles semblent entraîner une réaction consécutive, plus durable, pendant laquelle l'urine émise diminue de volume, mais rejette néanmoins au-dehors une plus grande quantité d'azote et de phosphore et une plus faible

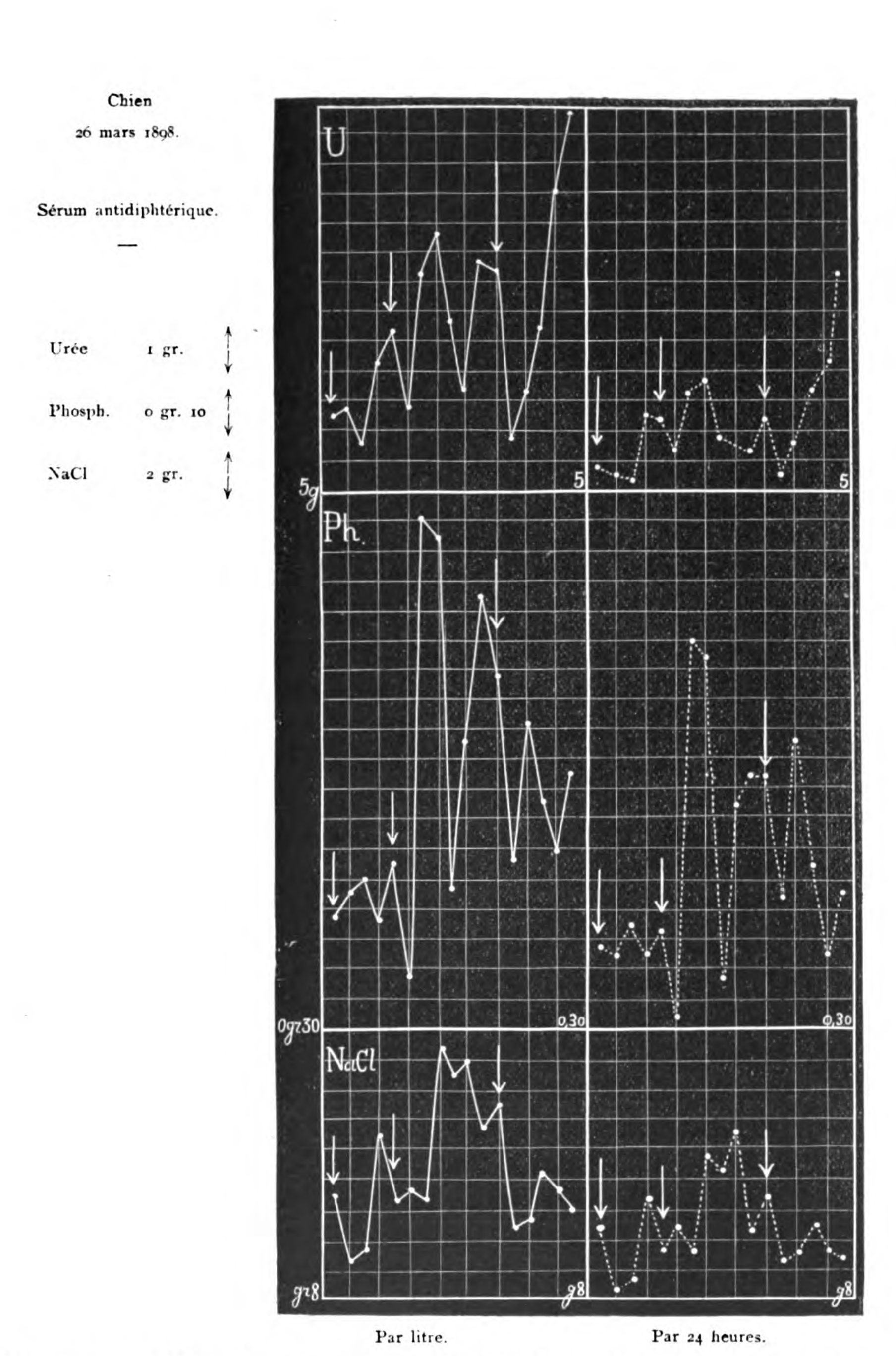



Figure 1. — Schéma des variations des quantités relative et absolue de l'urée, des phosphates et des chlorures de l'urine après l'administration du sérum antidiphtérique.

U, Urée; Ph, Phosphates; NaCl, Chlorure de sodium; les flèches verticales indiquent les injections de sérum; la longueur comprise entre les doubles flèches situées en haut et à gauche répond à 1 gr. d'urée, à 0,10 gr. de phosphates, à 2 gr. de chlorure de sodium.

quantité de chlore. La période consécutive à chaque injection, caractérisée par une diminution des éléments solides de l'urine, est plus longue après la première injection qu'après les injections suivantes.

Tels sont les troubles de la sécrétion urinaire déterminés, sur le chien, par l'injection sous-cutanée du sérum antidiphtérique. Ils accusent, en définitive, une augmentation des phénomènes d'élimination pour l'azote et le phosphore et de rétention pour le chlore, troubles qui concordent avec le ralentissement du développement observé sur de jeunes animaux soumis à des injections analogues.

Jamais l'administration sous-cutanée du sérum n'a causé l'albuminurie chez nos animaux.

**Troubles apportés à la sécrétion urinaire par l'injection de toxine diphtérique.**

Bien que ce mémoire vise l'étude du sérum antidiphtérique, nous tenons à mentionner ici les troubles apportés à la sécrétion urinaire par la toxine diphtérique, parce que nous en aurons besoin lorsque nous voudrons pénétrer le mécanisme de l'effet antitoxique.

On a décrit souvent les modifications de l'urine chez les malades atteint de la diphtérie. Plusieurs observations sur les modifications des urines sont consignées dans le livre de VARIOT (1). Mais les troubles causés expérimentalement par l'injection de la toxine diphtérique furent moins souvent étudiés.

Nous connaissons sur ce sujet un travail très important de DECROLY (2).

Cet expérimentateur a étudié les modifications de l'urine, sur le *lapin*, dans les cas d'intoxication aigue, subaigue, chronique et dans les intoxications non mortelles.

Dans les intoxications aigues, les seules qui soient comparables à celles que nous avons produites, DECROLY a observé : « l'augmentation absolue et relative de l'azote le premier jour, la diminution le second; l'augmentation absolue du phosphore le premier jour, la diminution le second; la diminution relative pendant les deux jours; l'augmentation très considérable tant relative qu'absolue du chlore le premier jour, l'augmentation pour 1000 se maintient le second jour quoique moins forte, tandis que la quantité absolue peut quelquefois être subnormale ».

DECROLY insiste beaucoup sur le trouble hyperchlorurique qui, dit-il, « ne semble avoir été signalé dans aucune des recherches expérimentales

(1) VARIOT : *La diphtérie et la sérumthérapie*, Paris, 1898.

(2) DECROLY : Archives de Pharmacodynamie. 1898.

sur les échanges nutritifs, pas plus en ce qui concerne les maladies infectieuses que les intoxications, pas plus chez le lapin que chez les autres animaux ou chez l'homme ».

Nos expériences ont été faites sur le *chien*. La dose de toxine injectée dans le tissu conjonctif sous-cutané a toujours déterminé la mort en trois à quatre jours au maximum. Nous avons évité de déterminer la mort avec

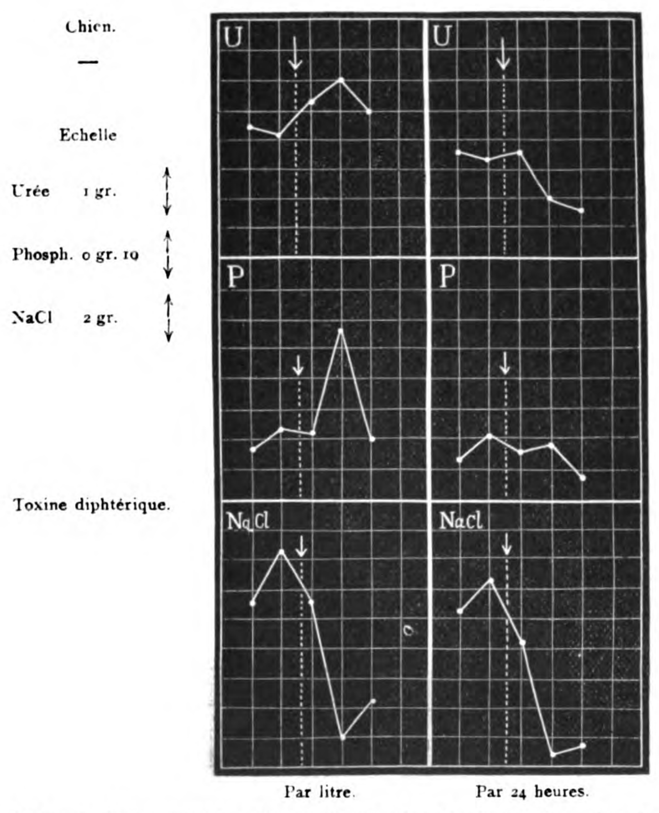



Fig. 2. — Schéma des quantités relative et absolue de l'urée, des phosphates et des chlorures de l'urine après l'injection de la toxine diphtérique. Les lettres et les signes ont la même signification qu'à la figure 1.

plus de promptitude, afin de pouvoir étudier les modifications de l'urine plus facilement et pendant plus longtemps. La quantité relative des toxines utilisées dans ces expériences a d'ailleurs varié, de 1/2 à 2 c.c. par kilogramme de poids vif. Voici les résultats que nous avons obtenus :

Règle générale, le volume de l'urine diminue après l'intoxication, immédiatement ou à partir du lendemain ; quelquefois, l'anurie est complète au moment de la mort et même 24 heures avant la mort.

Dans les intoxications aigues les plus sévères, la quantité absolue de l'urée, des phosphates et des chlorures diminue rapidement pendant le premier jour. La diminution, devenue fort légère, continue le deuxième jour, surtout pour les phosphates.

L'animal succombe en hypoazoturie, hypophosphaturie et hypochlorurie franches.

La quantité relative ou par litre diminue régulièrement pour l'urée et les chlorures; elle diminue aussi pour les phosphates après avoir présenté une oscillation positive dans la première journée. Parfois, la proportion des chlorures tend à se relever au cours de la deuxième journée tout en se maintenant à un chiffre très bas.

Lorsque l'intoxication est moins violente, la quantité absolue de l'urée, des phosphates et des chlorures diminue pendant les deux premiers jours à dater de l'injection; le ou les deux jours suivants, on remarque une tendance au relèvement de la quantité absolue de ces éléments essentiels de l'urine, moins accusée toutefois pour les phosphates. Mais si on examine les modifications de la quantité relative, on est frappé de voir succéder à l'injection une augmentation passagère de l'urée et des phosphates et, au contraire, une diminution des chlorures. La courbe qui figure la proportion des chlorures croise en X celle qui représente la modification de l'urée et des phosphates. Pendant les deux derniers jours de la maladie, la quantité relative de l'urée et des phosphates tombe brusquement tandis que celle des chlorures tend à s'élever.

Notre attention s'est portée particulièrement sur la modification de

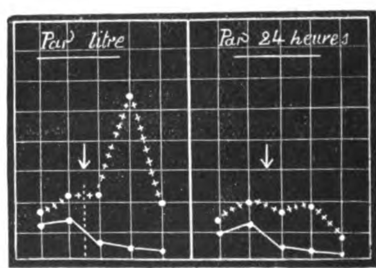



Fig. 3. — Schéma des variations des phosphates de l'urine après une injection mortelle de toxine diphtérique. Phosphates totaux ..... et Phosphates terreux ——

l'élimination phosphatique. La quantité absolue des phosphates finit toujours par diminuer dans tous les cas d'intoxication.

Mais la diminution n'est pas la même pour tous les phosphates. Ainsi les phosphates terreux diminuent davantage que les phosphates totaux; parfois, ils manquent presqu'entièrement (0,006) dans l'urine de 24 heures,

alors que les phosphates totaux figurent encore pour 0,070 dans la même urine. De plus, la courbe qui représente la chute des phosphates n'est pas parallèle à celle des phosphates terreux.

Ci-joint, figure 3, deux exemples très caractéristiques.

Dans les intoxications de moyenne intensité, l'élimination de l'urée et des phosphates atteint son maximum en même temps que l'hyperthermie; l'hypochlorurie atteint le sien 24 heures plus tard.

Dans les intoxications violentes, tous les éléments baissent rapidement et simultanément.

En résumé, l'empoisonnement par la toxine diphtérique se termine toujours par une diminution absolue et relative de l'urée, des phosphates et des chlorures de l'urine. La diminution s'établit d'emblée dans les intoxications les plus graves; elle est précédée d'une augmentation relative de l'urée et des phosphates dans les intoxications moins violentes.

Nos résultats diffèrent donc de ceux de DECROLY en ce sens que nous avons toujours observé l'hypochlorurie.

## III. — Modifications apportées à la thermogénèse, à la respiration et à la circulation par des injections intraveineuses de sérum.

J'ai fixé mon attention sur les troubles de la température, de la respiration et de la circulation sanguine.

### Troubles thermiques.

Au cours des injections de sérum antidiphtérique, la température s'abaisse légèrement. Mais bientôt le thermomètre accuse une élévation de température qui, en l'espace de 4 à 6 heures, atteint 1°5 à 2°. Ensuite, le thermomètre revient graduellement au chiffre initial. Si le chien doit survivre, la température se modifie peu à partir de la 12e ou de la 15e heure; s'il doit mourir, elle descend au-dessous de la normale. L'hypothermie est donc, en pareil cas, un symptôme de mauvais augure.

Dans l'intoxication par le sérum, la température marche donc comme dans l'empoisonnement par la toxine diphtérique, sauf le refroidissement temporaire consécutif à l'injection intraveineuse.

### Troubles imprimés à la respiration et à la circulation.

Tout le monde reconnaît des propriétés toxiques au sérum sanguin. Depuis plusieurs années, nous avons étudié les troubles qu'elles impriment à la respiration et à la circulation, en appelant la méthode graphique à notre secours. Ces études font partie d'un ensemble de recherches sur

les toxines et les sérums poursuivies dans notre laboratoire soit par J. COURMONT et DOYON, soit par GUINARD et ARTAUD ou par GUINARD et DUMAREST.

Les premiers résultats que nous ayons obtenus concernant la toxine diphtérique et le sérum antidiphtérique ont été communiqués à la Société de Médecine de Lyon en 1897, puis au Congrès de Médecine interne tenu à Montpellier en 1898.

A) *Par le sérum sanguin du cheval normal ou immunisé contre la diphtérie.*

Nous avons dit, au commencement de ce mémoire, les raisons pour lesquelles nous avons injecté le sérum dans les veines pour étudier les troubles imprimés aux grandes fonctions.

Nos expériences ont été faites sur des chiens auxquels nous injections de 5 à 12 c.c. de sérum par kilogramme de poids vif, dans la jugulaire ou dans la veine faciale.

Nous enregistrions simultanément : sur la ligne d'abscisse, le temps divisé en secondes; au-dessus, la respiration, à l'aide du pneumographe direct de GUINARD, le pouls et la pression artérielle à l'aide d'un manomètre inscripteur et d'un sphygmoscope placés sur l'artère carotide.

La quantité de sérum destinée à être introduite dans l'organisme était divisée par doses de 10 c.c., puis de 25 c.c., que l'on injectait dans les veines successivement et à des intervalles plus ou moins longs.

Le *sérum normal* et le *sérum antidiphtérique* se sont montrés également troublants pour la respiration et la circulation du chien.

Ou bien les troubles s'établissent lentement, graduellement, sans éclat; ou bien ils débutent d'une façon bruyante, inquiétante même, pour se dérouler ensuite avec calme.

Dans le premier cas, après la première et quelquefois la seconde injection, la respiration devient irrégulière, alternativement lente et accélérée, au total légèrement ralentie; l'inspiration est plus ample; l'expiration, entrecoupée. Simultanément, le pouls est un peu moins fréquent; la pression artérielle, plus élevée. Quelques minutes plus tard, la pression artérielle s'abaisse lentement, le pouls se précipite; la respiration s'accélère.

Au fur et à mesure que le nombre des injections augmente, la tension baisse davantage dans les artères, en présentant toutefois de grandes et lentes oscillations analogues aux oscillations de TRAUBE, les mouvements respiratoires, d'une amplitude variée, sont généralemant moins profonds et retentissent de moins en moins sur le graphique du manomètre, les systoles cardiaques sont de plus en plus faibles, aussi les pulsations

carotidiennes sont-elles de moins en moins visibles sur le tracé du sphygmoscope.

Bref, dans telle expérience où nous trouvions au début :

| | |
|---|---|
| Respiration | 14 |
| Pulsation | 108 |
| Pression artérielle | $0^{m}168$; |

nous lisions, après la première injection :

| | |
|---|---|
| Respiration | 13 |
| Pulsation | 96 |
| Pression | $0^{m}180$ |

et à la fin de l'expérience :

| | |
|---|---|
| Respiration | 60 |
| Pulsation | 120 |
| Pression | $0^{m}101$, |

soit une accélération de 46 mouvements pour la respiration, de 12 battements pour le pouls, et une diminution de pression de $0^{m}067$.

Dans le deuxième cas, quelques secondes après la première injection, surgissent des désordres cardiaques et respiratoires très alarmants, malgré la précaution de faire pénétrer le sérum dans le sang avec lenteur.

Ainsi, dans l'exemple que nous mettons sous les yeux du lecteur, 40 secondes après une injection de 10 c.c. de sérum antidiphtérique poussée en une minute et demie, la respiration devient subitement très accélérée, plaintive, puis se ralentit considérablement, offrant de temps en temps des pauses respiratoires de 12 à 15 secondes, après quoi elle redevient haletante et fréquente; la pression artérielle, agitée par de grandes oscillations de TRAUBE, s'abaisse rapidement de $0^{m}180$ à $0^{m}156$, $0^{m}140$, $0^{m}128$ jusqu'à $0^{m}070$; le pouls se fait de plus en plus petit, alternativement lent et précipité; le cœur est misérable. Plusieurs fois, on croit la mort imminente.

On prendra une notion exacte de ces accidents par l'examen en série des figures 4, 5, 6 et 7.

Mais bientôt, la situation s'améliore. Malgré le ralentissement considérable de la respiration et la faiblesse du pouls, la pression artérielle remonte et se fixe autour de $0^{m}125$ (voyez fig. 7); enfin, le pouls, très accéléré (120 au lieu de 100) reparaît sur le tracé sphygmographique.

Le système nerveux cardio-pulmonaire acquiert une certaine accoutumance à la suite de ce premier contact avec le sérum, car la seconde injection de 10 c.c. n'éveille plus qu'une faible réaction, et la troisième n'a plus d'action sur le cœur.

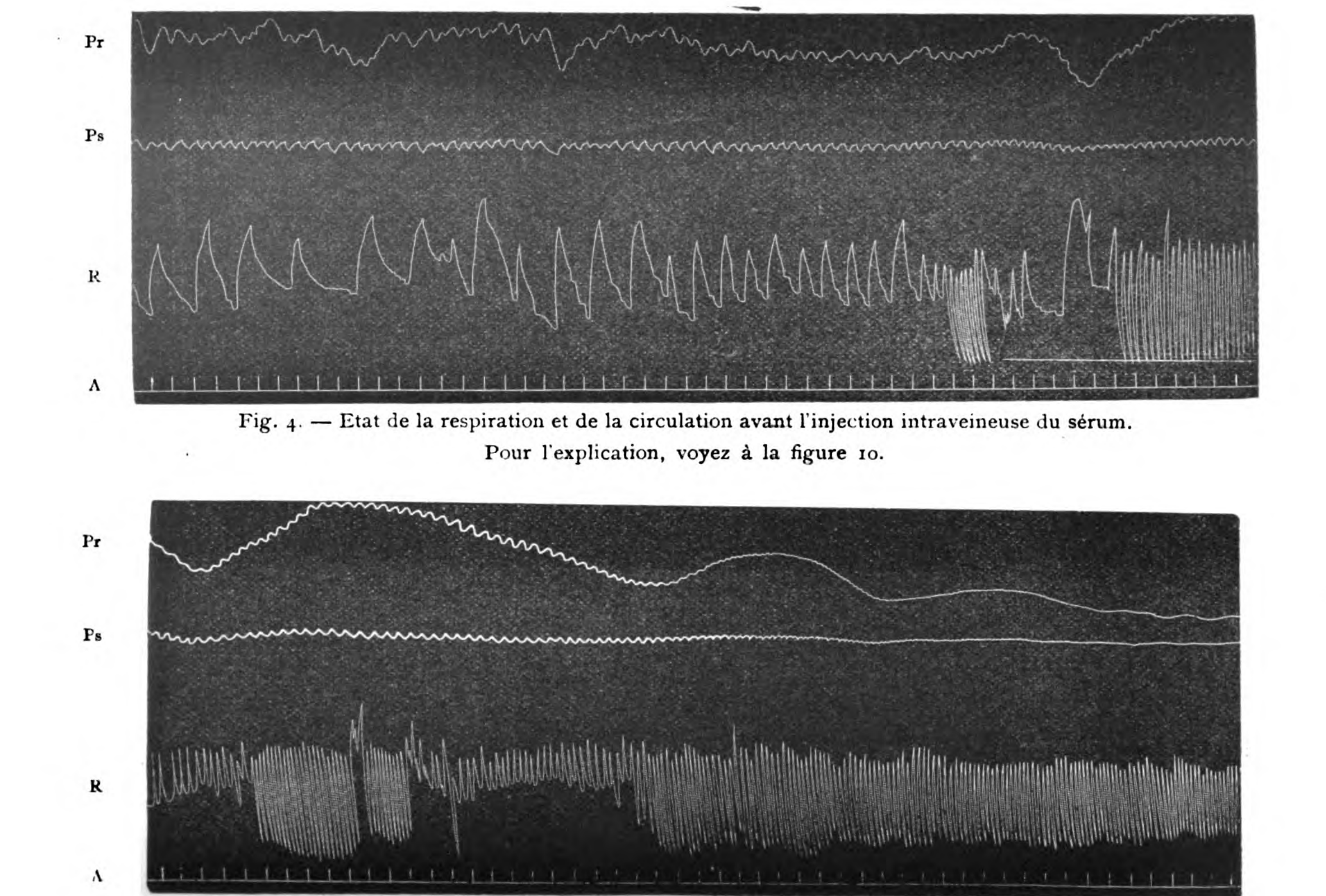



Fig. 4. — Etat de la respiration et de la circulation avant l'injection intraveineuse du sérum.
Pour l'explication, voyez à la figure 10.

**Fig. 5.** — Tracés pris immédiatement après une injection de 10 c.c. de sérum.

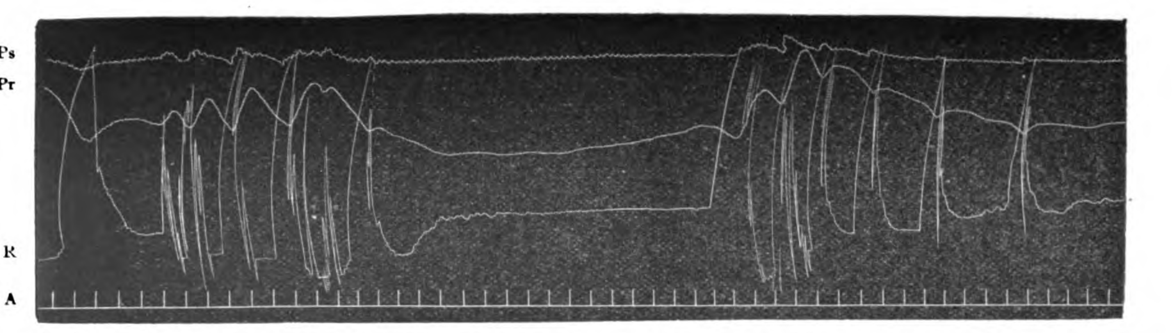



Fig. 6. — Tracé faisant suite au précédent, sur lequel se voit encore le trouble profond causé par l'injection.

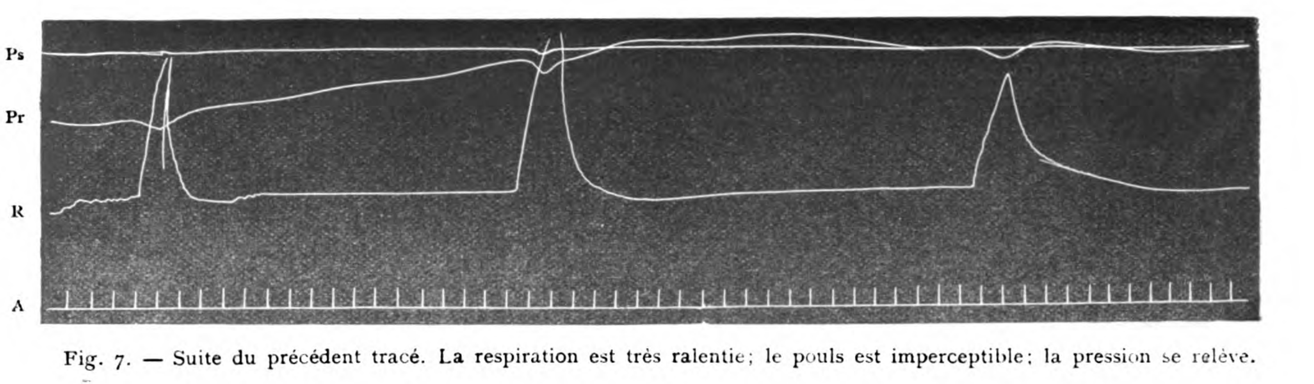



Fig. 7. — Suite du précédent tracé. La respiration est très ralentie; le pouls est imperceptible; la pression se relève.

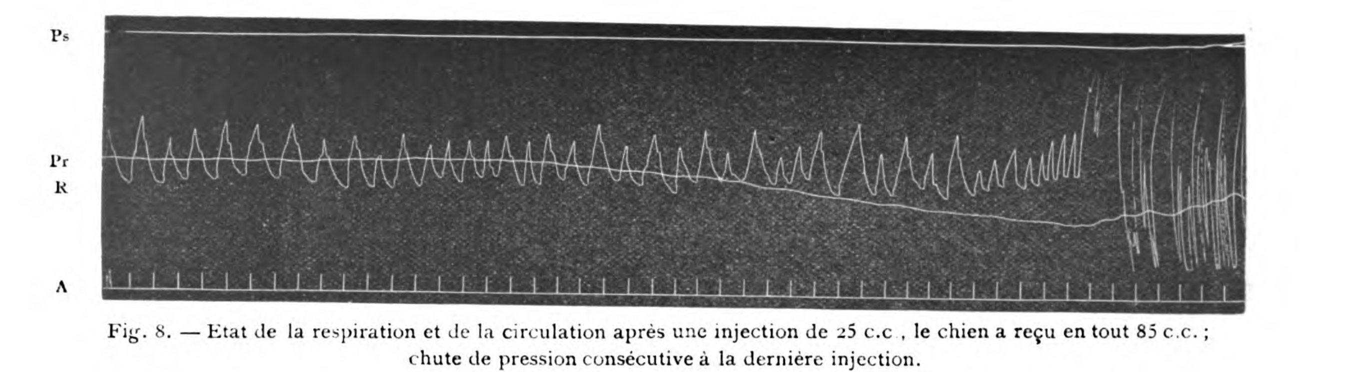



Fig. 8. — Etat de la respiration et de la circulation après une injection de 25 c.c., le chien a reçu en tout 85 c.c. ; chute de pression consécutive à la dernière injection.

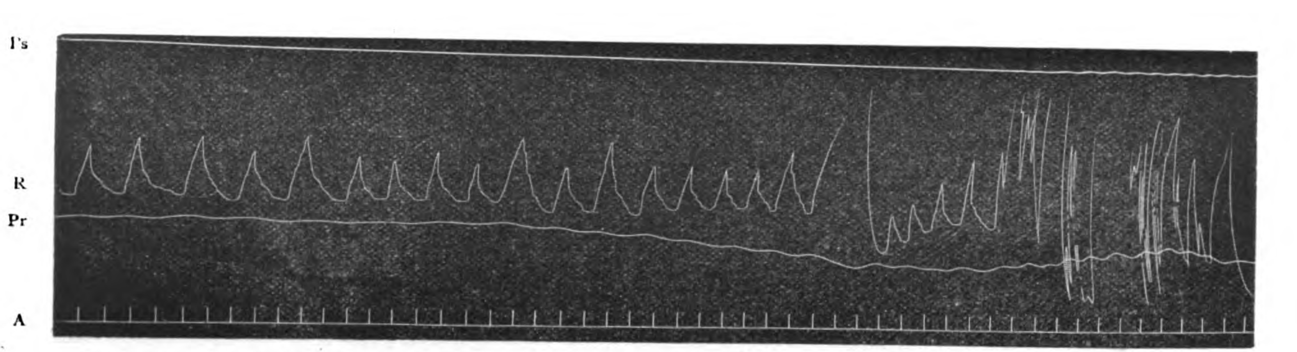



Fig. 9. — Portion de tracé faisant suite à la précédente, après une nouvelle injection de 25 c.c. de sérum.

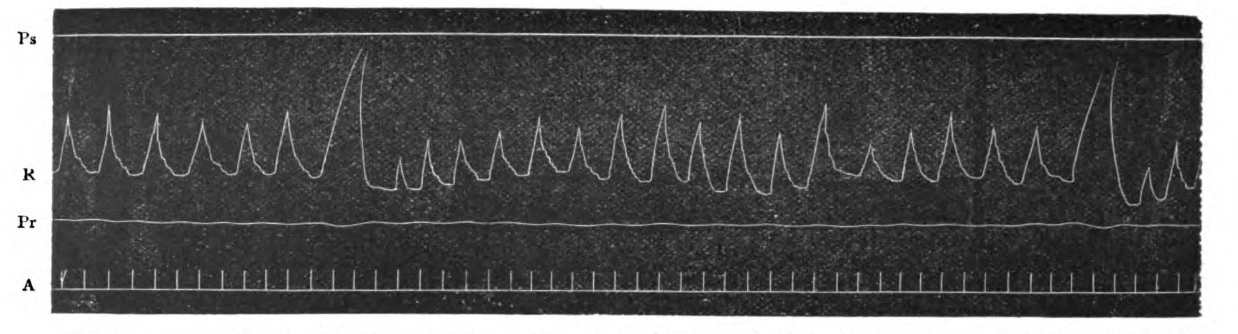



Fig. 10. — Dernière portion du graphique, après que toutes les injections furent poussées. Chute considérable et permanente de la pression artérielle.

Les figures 4 à 10 inclusivement montrent les modifications de la respiration, des pulsations et de la pression artérielle sur le chien à diverses phases d'une intoxication par le sérum antidiphtérique. (Chaque figure répond à une portion de tracé longue de $0^m25$.)

A, ligne d'abscisse sur laquelle le temps est indiqué divisé en secondes; R, respiration (le tracé de l'inspiration est ascendant); Ps, pulsations enregistrées à l'aide d'un sphygmoscope; Pr, pression manométrique.

Désormais, le pouls est presque imperceptible; à chaque nouvelle injection, la presssion artérielle subit une chute passagère dont elle sort de plus en plus amoindrie; la respiration est plus petite et plus fréquente qu'au début, coupée ça et là de périodes plaintives (voyez fig. 8 et fig. 9).

Toutes les injections étant faites, l'animal ayant reçu au total 120 c.c. de sérum, la pression artérielle tombe à 0m026 pour se fixer ensuite à 0m052, la respiration oscille entre 24 et 36 mouvements par minute (voyez fig. 10).

Voici, numériquement, les principales données de l'expérience au début et à la fin :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Début : | Respiration, 18; | Pouls, 100; | Pression, 0m164 |
| Fin : | » 36; | » 112; | » 0m852 |

Par conséquent, sous l'influence des injections intraveineuses du sérum antidiphtérique, la respiration s'est accrue de 18 mouvements par minute, le pouls de 12 pulsations, la pression artérielle a baissé de 0m112.

L'animal qui a présenté ces troubles respiratoires et circulatoires a succombé ultérieurement. Au cours, dans l'intervalle ou à la suite des injections, il a montré les autres symptômes de l'intoxication par le sérum décrits à la page 439, sur lesquels nous ne reviendrons pas actuellement.

En résumé, le sérum sanguin de cheval, pourvu ou dépourvu de la propriété antitoxique, agit énergiquement sur la respiration, le cœur et les vaisseaux. Il excite le centre respiratoire, affaiblit le muscle cardiaque, paralyse les vaso-constricteurs, entraîne *ipso facto* une dilatation intense des réseaux capillaires et une chute parfois énorme de la tension artérielle.

B) *Par la toxine diphtérique.* Un fait remarquable, sur lequel nous désirons fixer particulièrement l'attention, est l'analogie très grande, sinon l'identité complète, des troubles respiratoires et circulatoires causés sur le chien par la toxine diphtérique et le sérum du cheval.

Aussi nous nous dispenserons d'insister sur la description des effets de la toxine. D'ailleurs, CHARRIN, FENIEWESSY, ENRIQUEZ et HALLION les ont fait connaître. Ces derniers expérimentateurs y sont même revenus à deux reprises, en 1895 et en 1898, et ont présenté de nombreux graphiques à l'appui de leurs conclusions. En produisant nos propres tracés, nous occuperions donc, dans le journal qui nous donne l'hospitalité, une place qui peut être mieux employée.

La toxine diphtérique, disent ENRIQUEZ et HALLION, accélère la respiration et le pouls et fait baisser la pression.

De notre côté, nous avons noté de légères variantes dans la production de ces troubles par la toxine ou par le sérum. Ainsi, à dose mortelle, la

toxine accélère davantage le pouls ; le sérum, davantage la respiration ; le sérum provoque aussi une chute plus grande de la pression sanguine.

On se rendra compte de ces quelques particularités en jetant un coup d'œil sur le tableau ci-joint. Le signe + indique une augmentation du nombre des mouvements respiratoires ou des pulsations ; le signe —, la chute de la tension artérielle exprimée en millimètres :

| | TOXINE | SÉRUM |
|---|---|---|
| Respiration | + 15 | + 18 |
| | | + 46 |
| Pulsation | + 48 | + 14 |
| | + 24 | + 12 |
| Tension artérielle | — 33 | — 67 |
| | — 33 | — 112 |

Puisque l'occasion s'offre à nous de parler du mémoire de MM. ENRIQUEZ et HALLION, nous ajouterons un mot de critique sur l'opinion de ces auteurs touchant la cause de la mort dans l'intoxication diphtérique. Pour eux, la cause immédiate de la mort ne réside ni dans l'abaissement de la température ni dans la suppression des mouvements respiratoires, mais réside, au contraire, dans la chute progressive de la tension artérielle. L'obstacle qu'on apporte au refroidissement des sujets, l'entretien artificiel de la respiration ne préservent pas de la mort, tandis que le relèvement de la pression artérielle par des injections d'eau salée améliore temporairement l'état des animaux et retarde le dénoûment fatal.

Il me paraît aussi difficile d'attribuer exclusivement la mort à l'hypotension qu'au refroidissement et au trouble de la respiration. La preuve, c'est que les injections intravasculaires d'eau salée n'empêchent pas les animaux de succomber. Assurément, l'hypotension, parvenue à un certain degré, est incompatible avec la vie. Mais ne résulte-t-elle pas elle-même de modifications d'un ordre plus général ? Nous rappellerons à cette occasion les recherches que nous avons publiées, en 1895, avec LAULANIÉ (1), sur les troubles imprimés à la température, aux combustions respiratoires et à la thermogénèse par la toxine diphtérique, où nous faisons ressortir que le poison diphtérique atteint à leur source les processus chimiques d'où dérivent le dégagement de l'énergie et de la chaleur animale. L'empoisonnement du protoplasme, frappant ce dernier dans tous les

(1) ARLOING et LAULANIÉ : *Introduction à l'étude des troubles de la température, des combustions respiratoires et de la thermogénèse sous l'influence des toxines bactériennes*. Archives de Physiologie, 1895.

points de l'organisme, ne constituerait-il pas la cause essentielle ou, tout au moins, l'une des causes capitales de la mort par les toxines du bacille de LŒFFLER?

## IV. — De l'action antitoxique du sérum antidiphtérique.

Les développements dans lesquels nous sommes entré et les expériences que nous avons reproduites démontrent que rien d'important et de saisissable ne distingue les propriétés du sérum normal de celles du sérum antidiphtérique. Le pouvoir spécial dont ce dernier est revêtu ne peut pas se déceler si l'on prend pour réactif l'organisme d'un animal sain. Rien dans les modifications de la respiration, de la circulation sanguine, de la nutrition, ne permet de reconnaître la présence de la substance antitoxique du sérum antidiphtérique. Pour en assurer la manifestation, il faut mettre le sérum immunisant au contact de la toxine soit *in vitro,* soit dans l'organisme.

Les initiateurs du sérum antidiphtérique, BEHRING, ROUX, et tous les expérimentateurs qui, avec eux, ont étudié la question, ont montré l'action neutralisante remarquable exercée par le sérum sur la toxine diphtérique. Un mélange fait *in vitro* dans des proportions convenables peut être introduit dans le tissu conjonctif d'un cobaye sans le faire mourir et sans produire de réaction locale digne d'être mentionnée.

Nous avons cherché à pénétrer plus avant dans la connaissance de cette curieuse neutralisation. Nous avons voulu savoir, principalement, si la neutralisation est réciproque et à ce point complète que l'introduction du mélange dans le sang ne trouble pas sensiblement les grandes et principales fonctions.

### Action du mélange de sérum antidiphtérique et de toxine sur la respiration et la circulation.

Un chien est fixé sur une table, on adapte à l'artère carotide un manomètre inscripteur et un sphygmoscope et on enroule autour de la poitrine le pneumographe de GUINARD. On enregistre la respiration, le pouls et la pression artérielle à l'état normal; puis, tout en continuant à recueillir des graphiques, on injecte dans la veine jugulaire, à doses successives et espacées, un mélange à parties égales de toxine et de sérum antidiphtérique. La quantité de toxine ou de sérum contenue dans le mélange, injectée séparément, était capable d'entraîner la mort du sujet.

Or, les tracés que nous reproduisons ici (fig. 11, 12, 13 et 14).

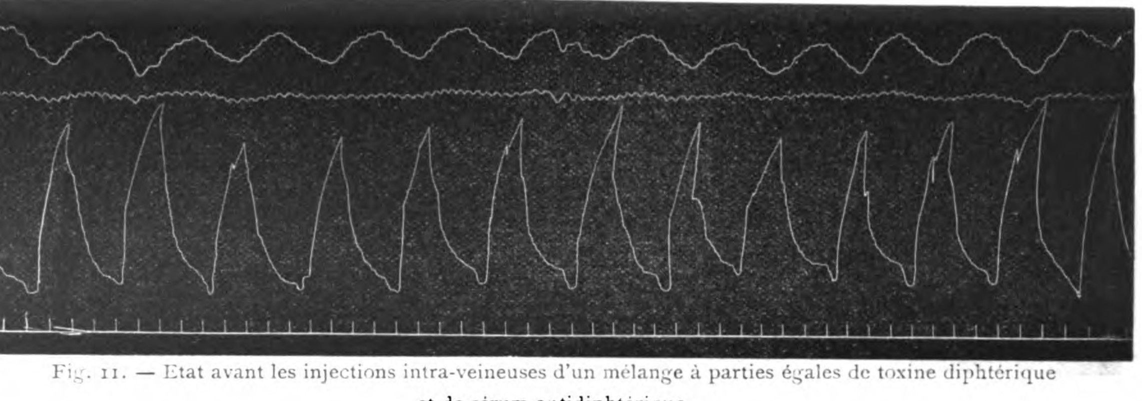



Fig. 11. — Etat avant les injections intra-veineuses d'un mélange à parties égales de toxine diphtérique et de sérum antidiphtérique.

Pour l'explication, voyez à la suite de la figure 14.

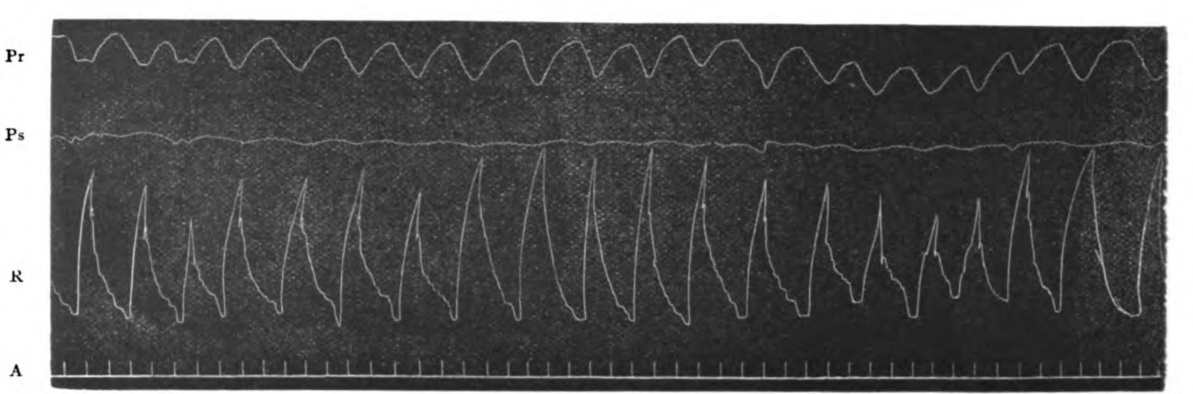



Fig. 12. — Etat de la respiration et de la circulation après deux injections; l'une de 10 c.c., l'autre de 20 c.c.

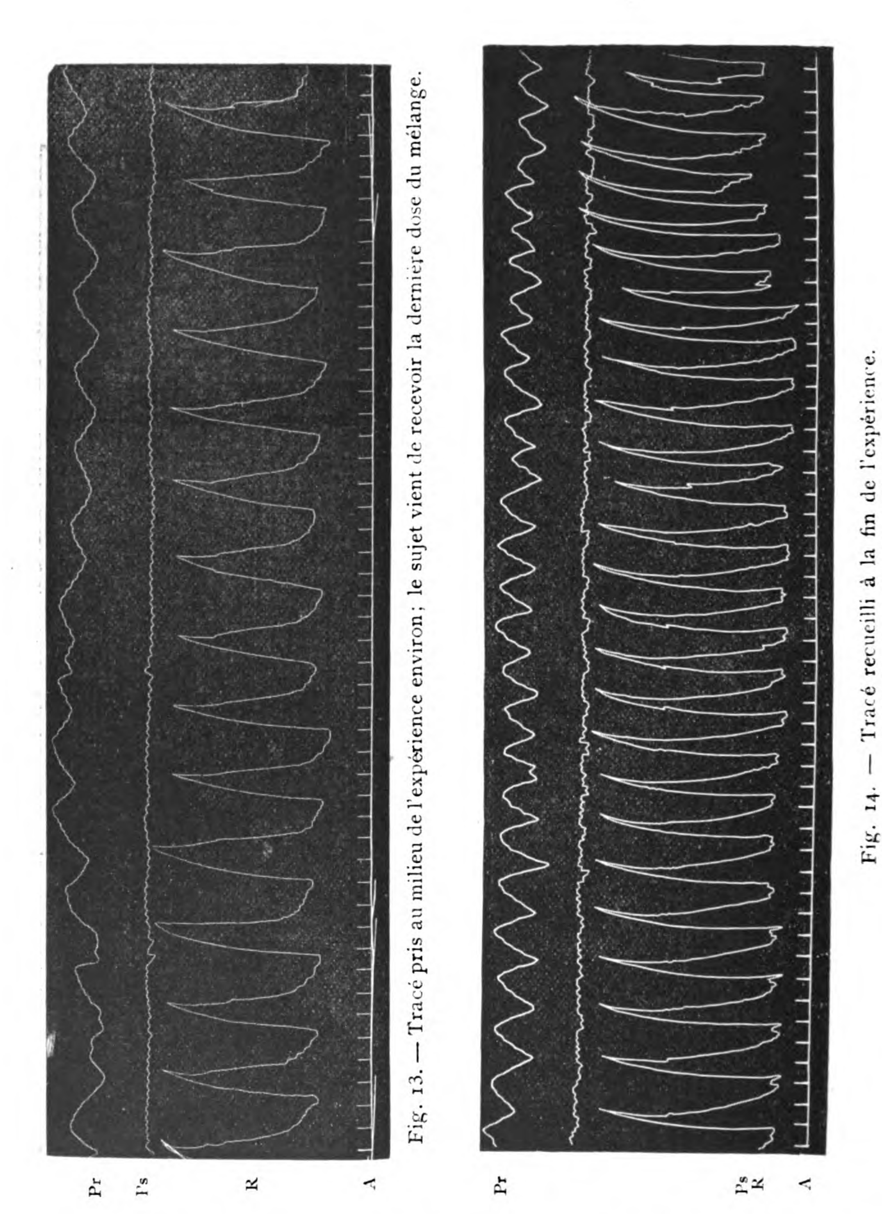



Fig. 13. — Tracé pris au milieu de l'expérience environ ; le sujet vient de recevoir la dernière dose du mélange.

Fig. 14. — Tracé recueilli à la fin de l'expérience.

Les figures de 11 à 14 montrent l'état de la respiration, des pulsations et de la pression artérielle sur le chien à diverses phases d'une expérience où l'on a injecté dans les veines un mélange à parties égales de toxine diphtérique et de sérum antidiphtérique. Chaque figure répond à une portion de tracé longue de $0^{m}25$.

A, abscisse et secondes; R, respiration; Ps, pulsations; Pr, pression artérielle.

démontrent que, dans ces conditions, on n'obtient ni les effets de la toxine ni ceux du sérum.

D'abord, la réaction cardio-pulmonaire si vive et si alarmante que l'on observe parfois à la suite de la première injection de toxine ou de sérum est supprimée. Ensuite, au cours de l'expérience, on constate bien quelques oscillations dans le nombre ou l'amplitude des respirations et des pulsations, dans la valeur de la pression artérielle; mais outre qu'elles sont minimes, elles sont essentiellement temporaires et disparaissent peu de temps après la dernière injection.

Les oscillations se rattachent à la pénétration de chacune des ondées du mélange dans le torrent circulatoire. Dès que le mélange s'est répandu dans la masse sanguine, les fonctions se rétablissent à peu près à l'état normal. Ainsi la pression artérielle baisse légèrement et le nombre des pulsations s'élève quelque peu après chaque injection. Mais à la fin de l'expérience, les chiffres qui expriment les pulsations et la pression ressemblent beaucoup à ceux du début.

Voici ces chiffres :

| | DÉBUT | FIN |
|---|---|---|
| Respirations | 21 | 25 |
| Pulsations | 142 | 156 |
| Tension artérielle | 0m143 | 0m144 |

La différence ne dépasse pas celle que peut amener la contention forcée.

Quant au pouls, il est petit, mais aussi net et aussi bien frappé qu'au début de l'expérience.

Le lecteur sera édifié par l'examen des quatre figures, 11, 12, 13, 14, représentant l'état de la respiration, de la pression artérielle et du pouls, avant, pendant et après les injections.

Donc, la neutralisation de la toxine est aussi complète que possible, à juger d'après les réactions cardio-pulmonaire et vasculaire. Nous ajouterons que la neutralisation est *réciproque*, attendu que les tracés ne montrent plus les effets de l'injection intraveineuse de sérum qui, nous le savons, ont la plus grande ressemblance avec ceux de la toxine.

**Action du mélange de sérum antidiphtérique et de toxine sur la nutrition générale appréciée par les caractères de la sécrétion urinaire.**

J'ai cherché des éléments relatifs à la neutralisation de la toxine par le sérum et, réciproquement, dans l'étude des modifications de la sécrétion urinaire à la suite de l'injection sous la peau d'un mélange de ces deux liquides.

Decroly, dans le travail précité, a examiné les variations de l'urée, des phosphates et des chlorures sous l'influence de l'injection de ce mélange. De ces expériences, il conclut qu'« au point de vue des divers facteurs considérés (urée, phosphates, chlorures), l'intoxication par la toxine combinée avec une dose suffisante(1) de sérum se caractérise absolument par les mêmes phénomènes que l'intoxication par la toxine seule ».

Nos recherches sur le chien ne nous permettent pas de souscrire à cette conclusion.

Effectivement, en injectant au chien un mélange dans lequel entre une quantité de toxine (1/2 c.c. par kilogramme de poids vif) et une quantité de sérum (1 c.c. par kilogramme de poids vif) égales à celles qui ont causé les troubles signalés précédemment, nous n'avons obtenu ni les effets de la toxine ni ceux du sérum. Voyons plutôt :

*a)* La *toxine* fait diminuer le volume de l'urine immédiatement ou le deuxième jour après l'injection. Le *sérum* cause une polyurie le premier jour, une diminution de l'urine les jours suivants. *Le mélange* de toxine et de sérum provoque une polyurie qui va croissant pendant quatre à cinq jours.

*b)* La *toxine* entraîne toujours une diminution absolue et relative de l'urée, des phosphates et des chlorures, débutant d'emblée ou précédée, dans les intoxications moins violentes, de l'augmentation relative de l'urée et des phosphates. Le *sérum* fait baisser temporairement la quantité absolue et relative de l'urée, des phosphates et des chlorures, ensuite, l'hypochlorurie persiste tandis que les phosphates et l'urée présentent une augmentation. Le *mélange* fait osciller les quantités absolue et relative de l'urée et des phosphates au voisinage des *minima* de l'état normal, et les quantités absolue et relative des chlorures au voisinage des *maxima*.

Le sujet, dans ce cas, n'est ni hypoazoturique et hypophosphaturique ni hypochlorurique; l'élimination de l'azote et du phosphore est simplement minimale, celle du chlore maximale.

Il est donc impossible de nier l'existence d'un léger trouble de la nutrition générale par l'injection du mélange de toxine et de sérum. Au surplus, la température du sujet monte de 0°5 à 0°7, pendant les deux ou

(1) Au moment de la correction des épreuves, on m'informe que par suite d'une faute d'impression le mot « suffisante » n'a pas été remplacé par « insuffisante » qui était dans l'esprit de M. Decroly. Les critiques que j'adresse au travail de cet expérimentateur seraient en partie superflues, si la substitution du mot avait été faite.

trois jours qui suivent l'injection; simultanément, son poids diminue de 150 à 200 gr. Ces faits prouvent que l'organisme a été ébranlé par l'administration du mélange.

Mais combien ce trouble est insignifiant comparativement aux modifications causées par la toxine et le sérum injectés isolément.

Aussi, croyons-nous encore une fois à une neutralisation réciproque, au point de vue dynamique, des liquides associés dans le mélange précité.

**Neutralisation des effets hyperthermisants et hypothermisants de la toxine par le sérum antidiphtérique.**

La neutralisation se fait également sentir sur les éléments de la toxine qui troublent la calorification. Nous savons qu'à la suite d'une période d'incubation plus ou moins brève, la toxine provoque une forte élévation de la température, puis une hypothermie qui s'étend jusqu'au moment de la mort.

L'adjonction du sérum à la toxine avant son introduction dans l'organisme prévient ces troubles thermiques. Nous n'avons jamais vu la température dépasser 38°5 à la suite de l'injection du mélange dans le tissu conjonctif sous-cutané. Au bout de 48 heures, elle revenait peu à peu à la normale, au-dessous de laquelle elle n'est jamais tombée. C'est-à-dire que l'injection du mélange produit une légère hyperthermie et n'entraîne jamais d'hypothermie.

**Des affinités de l'action antitoxique du sérum avec une action médicamenteuse connue.**

De l'exposé qui précède, nous concluerons que si les injections de sérum relèvent le pouls du diphtérique, soutient le cœur, fait diminuer la pâleur des téguments et parfois la température centrale, ce n'est pas en vertu des effets physiologiques propres au sérum, mais bien par une véritable annihilation des effets du poison diphtérique.

Effectivement, ce résultat est obtenu avec une substance complexe dont les éléments pris en bloc produisent sur l'organisme sain des troubles analogues à ceux qui accompagnent les injections de toxine.

En conséquence, si nous cherchions parmi les médications connues, celle qui se rapprocherait le plus de l'action du sérum antidiphtérique, nous écarterions l'*antagonisme* vrai ou faux basé sur l'utilisation de propriétés opposées à celles que l'on veut combattre, pour retenir le *synergisme*, c'est-à-dire une action médicamenteuse double dans laquelle une des substances supprime l'un des effets d'une autre substance, effet qu'elle

peut déterminer de son côté. Telle est l'association de l'atropine à la morphine dans le but de supprimer l'action vomitive de cette dernière.

Hâtons-nous de faire observer que l'action neutralisante du sérum dans l'organisme peut se manifester tant que les cellules sur lesquelles s'exercent les effets de la toxine sont capables de réagir en même temps aux effets du sérum. Au-delà de cette période, les effets nocifs du sérum étant de même ordre que ceux de la toxine s'ajoutent à eux et deviennent *ipso facto* beaucoup plus nuisibles qu'utiles.

On jugera de l'addition des effets que nous venons d'indiquer sommairement en lisant le paragraphe suivant.

**Action successive de la toxine et du sérum antidiphtérique sur la respiration, le pouls et la pression artérielle.**

Si le sérum antidiphtérique est injecté lorsque la toxine a déjà développé une partie de ses effets nocifs, les troubles de la circulation ne sont pas arrêtés, la mort survient inévitablement.

Nous reproduisons ci-après une expérience où les injections intraveineuses de sérum sont commencées au moment où les symptômes de l'empoisonnement par la toxine se compliquaient déjà de vomissement, c'est-à-dire trois heures après l'injection de cette dernière.

Le chien, un basset de 17 kilos, est fixé et reçoit les appareils destinés à enregistrer la respiration, le pouls et la tension artérielle.

La phase qu'il traverse est caractérisée par l'accélération de la respiration, le ralentissement et la plénitude du pouls, une tension artérielle encore forte, de $0^{m}148$ (voyez fig. 15).

Le sérum est poussé par fraction de 4 c.c. Dès les premières injections, le manomètre enregistre de grandes oscillations de Traube; la respiration gagne en amplitude, le pouls devient plus fréquent et plus faible. Ces modifications se rencontrent sur la figure 16, sauf les oscillations de Traube.

Après trois injections, la pression artérielle commence à baisser, le pouls se précipite encore davantage; les oscillations de Traube deviennent plus lentes et moins considérables.

A la suite de cinq injections, l'animal présente des efforts de vomissement. La figure 17 montre l'état de la respiration, du pouls et de la pression pendant une période nauséeuse.

Bientôt, lorsque le chien a reçu 25 c.c. de sérum dans les veines, la pression tombe à $0^{m}097$, le pouls est presque imperceptible, la respiration se ralentit et les mouvements diminuent d'amplitude.

Fig. 15. — Etat de la respiration et de la circulation sous l'influence de la toxine diphtérique. Ultérieurement, on injectera du sérum antidiphtérique. — Pour les explications, voyez à la figure 19.

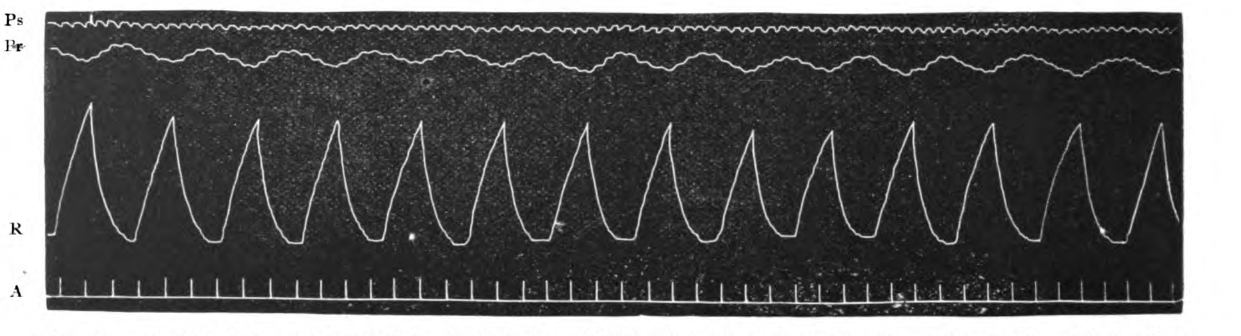



Fig. 16. — Etat de la respiration et de la circulation après l'injection intraveineuse de 16 c.c. de sérum antidiphtérique.

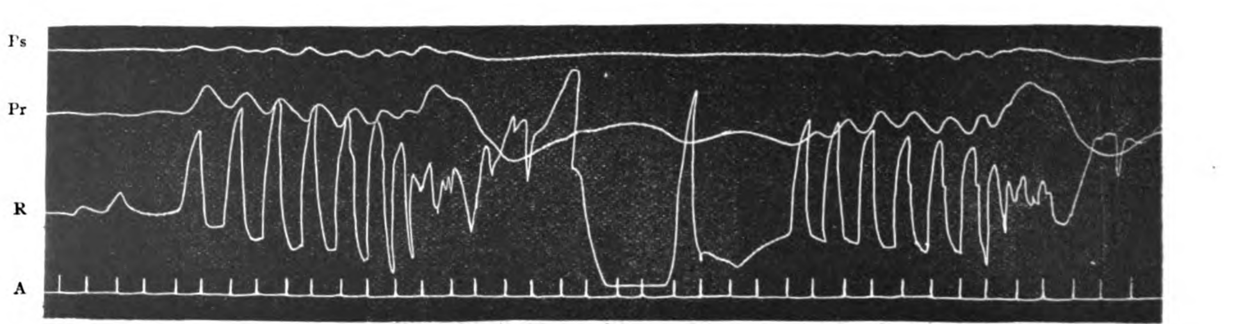



Fig. 17. — Etat de la respiration et de la circulation pendant un effort de vomissement consécutif à une injection de 8 c.c. de sérum. Le chien a déjà reçu 32 c.c.

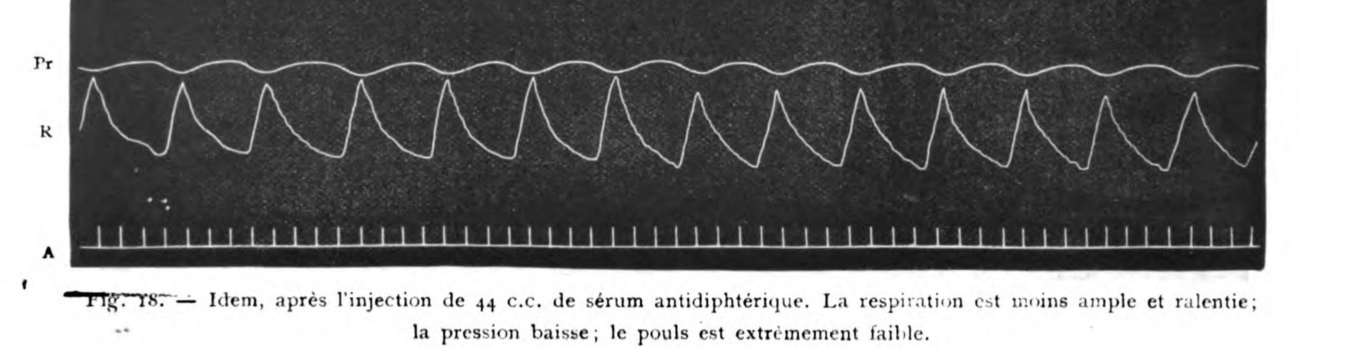



Fig. 18. — Idem, après l'injection de 44 c.c. de sérum antidiphtérique. La respiration est moins ample et ralentie; la pression baisse; le pouls est extrêmement faible.

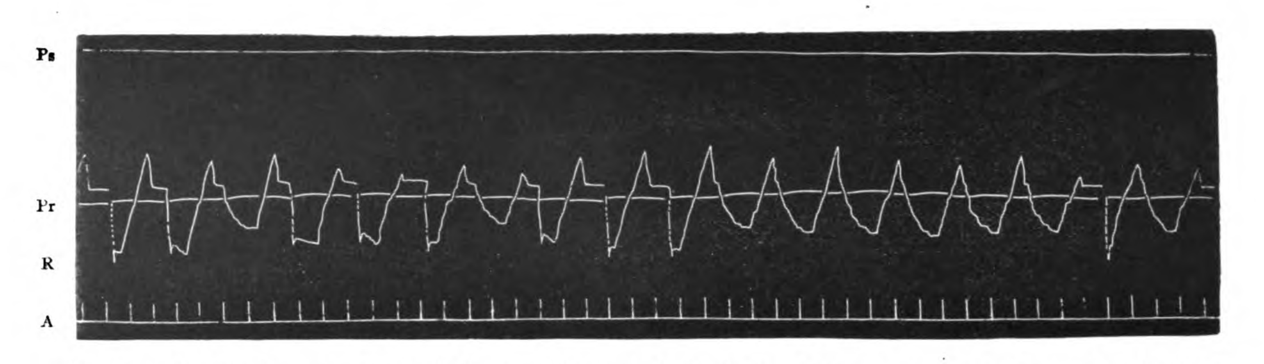



Fig. 19. — Etat de la respiration et de la circulation vers la fin de l'expérience. Le chien a reçu 44 c.c. de sérum. Grande chute pression; pouls imperceptible; expiration saccadée et soubresautante.

Les figures 15 à 19 montrent les modifications de la respiration et de la circulation sous l'influence d'injections intraveineuses de sérum antidiphtérique sur un chien empoisonné par la toxine diphtérique. (Chaque figure répond à une portion de tracé longue de $0^{m}25$.) A, abscisse et secondes; R, respiration; Pr, pression artérielle; Ps, pulsations de la carotide.

Enfin, lorsque l'animal a reçu 44 c.c. de sérum, le pouls est encore plus misérable, la pression artérielle, très faible, oscille entre 0m064 et 0m060, la respiration prend une assez grande amplitude, mais elle est lente et l'expiration est saccadée et entrecoupée (voyez fig. 18 et 19).

Cet état se prolonge pendant quelques heures, puis le sujet meurt sous le coup d'une prostration extrême.

Ici, il est évident que les effets fâcheux qui appartiennent aux injections intraveineuses de sérum sont venus s'ajouter à ceux de l'intoxication diphtérique.

Il semble donc que le sérum antitoxique exige pour le développement de son action spéciale que le protoplasme des éléments de l'organisme n'ait pas été soumis trop longtemps à l'influence néfaste de la toxine diphtérique.

## V. — Examen critique des hypothèses sur la nature de l'action antitoxique.

Les opinions se groupent autour de deux hypothèses : 1° L'antitoxine neutralise le pouvoir nocif de la toxine en formant avec elle une sorte de combinaison chimique (BEHRING); 2° L'antitoxine et la toxine restent libres et agissent sur les cellules de l'organisme d'une manière différente (ROUX, BUCHNER).

Parmi les auteurs qui se sont occupés récemment de ces questions, MARENGHI se rattache à la seconde hypothèse, DZIERZGOWSKI, à la première. Tous, sans exception, paraissent appuyer leur manière de voir sur d'excellentes raisons, et tous sont partis de cette expérience saisissante de BEHRING et KITASATO dans laquelle un mélange à proportions convenables de toxine et de sérum, injecté sous la peau du cobaye, ne provoque aucune réaction ni locale ni générale.

A mon avis, il ne faut pas chercher l'explication de l'effet préventif et curatif du sérum antidiphtérique dans la neutralisation *in vitro* de la toxine par le sérum. Le résultat fort remarquable obtenu par l'intervention de l'antitoxine ne relève pas précisement d'un seul et même mécanisme.

Nous croyons qu'il faut mettre à part la neutralisation *in vitro*. Nous pensons, en effet, qu'il se passe au contact extérieur des deux liquides des modifications qui ne se produisent pas lorsqu'ils sont lancés séparément dans l'organisme. N'avons-nous pas montré, il y a quelques mois (Comptes-rendus de l'Acad. des Sciences, 25 avril 1898), que les effets immunisants varient suivant la voie et le mode d'introduction du sérum antidiphtérique? N'avons-nous pas observé que les effets immunisants sont moins complets

si la toxine et le sérum sont injectés simultanément en des points différents du tissu conjonctif que si le sérum est injecté dans le sang et la toxine sous la peau, que si toxine et sérum sont, préalablement à l'injection, mélangés *in vitro?*

Pareilles différences n'existeraient pas si, dans tous les cas, la genèse des phénomènes présentaient la même simplicité. Quand le sérum est employé à titre préventif, il reste seul en présence des éléments de l'organisme pendant un certain temps; inversement, lorsqu'il est employé à titre curatif, la toxine reste seule en présence des cellules du sujet infecté. Il est impossible que, dans le laps de temps, où l'un des produits séjourne seul dans l'économie, il n'exerce pas sur les éléments solides et les humeurs une influence dont on ne peut trouver l'analogue dans le mélange *in vitro*. Aussi Roux, Buchner ont eu raison de faire intervenir une action sur les cellules dans le développement des effets de l'antitoxine sur l'organisme sain ou affecté de diphtérie. Mais ils ont eu tort, à mon sens, de vouloir rattacher ces effets aux phénomènes qui peuvent se passer dans un verre de montre où l'on met en présence du sérum et de la toxine.

Nous envisagerons donc particulièrement et séparément ces derniers et nous chercherons s'il n'existe pas dans notre travail des faits capables de donner plus de probabilité à l'une des deux hypothèses précitées.

Si le lecteur veut bien se reporter au paragraphe IV de ce mémoire, il verra, par l'étude qui y est faite de l'action du mélange de sérum et de toxine sur la respiration et la circulation, ainsi que sur la sécrétion urinaire, que les produits injectés sous la peau n'entraînent ni les effets propres à la toxine ni les effets propres au sérum. Les réactions respiratoires et circulatoires sont même si minimes que nous avons conclu à une neutralisation réciproque des effets de l'antitoxine et de la toxine.

Mais on peut se demander si cette neutralisation à laquelle on est forcément conduit s'est produite *in vitro* ou bien si elle résulte, comme l'admet Buchner, de l'action sur les cellules de l'organisme, en deux sens opposés, de l'antitoxine et de la toxine introduites mélangées, mais à l'état libre.

On doit abandonner l'idée d'une action sur les cellules de l'économie exercée en deux sens opposés, attendu que nos expériences établissent que l'action pharmacodynamique du sérum et de la toxine entraîne des troubles analogues de la respiration et de la circulation.

Nous reconnaissons, néanmoins, que ce fait ne suffit pas à ruiner l'hypothèse d'une neutralisation *in corpore* des effets physiologiques de la toxine, parce que le même résultat est fourni quelquefois par le mélange de deux substances possédant certaines propriétés identiques.

Cependant l'influence du mélange sur la sécrétion urinaire est plutôt l'effet d'une substance nouvelle que la résultante de deux substances agissant selon le synergisme thérapeutique. La polyurie, surtout, qui se montre après l'injection du mélange, paraît bien trahir l'intervention de corps nouveaux formés *in vitro*, au contact de la toxine et de l'antitoxine.

Conséquemment, sans apporter d'éléments absolûment déterminants en faveur d'une hypothèse, nos expériences nous engageraient pourtant à opter pour la neutralisation *in vitro* par réaction d'un produit sur l'autre.

D'ailleurs, DZIERZGOWSKI (1) a publié un grand nombre d'expériences délicatement faites qui étayent fortement l'hypothèse de la neutralisation chimique.

La principale est la suivante : la toxine est physiologiquement détruite par la température de 55°; le sérum, par celle de 70°. Si on chauffe un mélange de toxine et de sérum physiologiquement inactif à 55°, pendant le temps nécessaire, la toxine doit être détruite et s'il n'y a pas eu de réactions chimiques antérieures, le sérum doit être libre et prêt à neutraliser une quantité égale de toxine. Or, il n'en est rien, si on ajoute de la toxine, le mélange devient toxique. Donc, l'antitoxine n'est pas restée libre.

Toutes les autres expériences de DZIERZGOWSKI n'ont fait qu'appuyer cette expérience capitale.

Il est vrai que ROUX (2) a cité des expériences faites avec VAILLARD sur l'antitoxine tétanique qui plaideraient pour la conservation des deux substances dans le mélange. Ces auteurs associent 900 parties de toxine et de sérum et injectent 1/2 centimètre de ce mélange à 10 cobayes dont 5 ont été immunisés quelques temps auparavant contre le vibrion cholérique de Massaouah; ces derniers meurent de tétanos, les autres ne sont pas malades. Ils en concluent que la toxine était restée libre et qu'elle a frappé les cobayes qui présentaient plus de sensibilité à l'égard des toxines, en raison d'une maladie antérieure.

Cette interprétation est assurément la première qui se présente à l'esprit. Est-elle la seule acceptable? Il ne serait pas irrationnel d'admettre que le produit résultant de la réaction de la toxine et du sérum est dissocié et la toxine régénérée par une substance qui existerait dans l'organisme des cobayes immunisés contre le vibrion de Massaouah.

---

(1) DZIERZGOWSKI : *Sur la question des rapports entre le sérum antidiphtérique et la toxine diphtérique*. Archiv. des sciences biologiques de l'Institut impérial de méd. expér. de St Pétersbourg, 1898 et Arch. intern. de Pharmacod., vol. V, p. 1.

(2) ROUX : *Sur les sérums antitoxiques*. Annales de l'Institut PASTEUR, 1894.

Si l'on se range à l'explication de Roux et Vaillard, il faut accepter une hypothèse qui n'est pas moins difficile à admettre que la nôtre, savoir : qu'une maladie antérieure rend les cellules des cobayes sensibles à l'action des toxines et insensibles à l'action des antitoxines.

Il serait oiseux de prolonger cette discussion puisque nous sommes incapable de l'éclairer d'une manière complète. Nous terminerons en faisant remarquer que notre contribution est un argument de plus en faveur de la neutralisation de la toxine et de l'antitoxine diphtériques pendant leur contact *in vitro*.

## Conclusions.

1° Le sérum du cheval normal et celui du cheval immunisé contre la diphtérie jouissent de propriétés toxiques.

2° La toxicité de ce sérum s'exerce sur le chien à dose incomparablement plus faible que sur le lapin.

3° Elle n'est pas rigoureusement constante.

4° Elle a les mêmes caractères, qu'il s'agisse du sérum normal ou du sérum antidiphtérique.

5° Une dose de sérum capable de tuer le chien à la suite de son introduction dans les veines, détermine seulement un trouble éphémère si l'introduction a lieu dans le tissu conjonctif sous-cutané.

6° Injecté quotidiennement dans le tissu conjonctif, à petite dose, et pendant longtemps, le sérum normal ou le sérum antidiphtérique ralentit la nutrition et l'accroissement des jeunes animaux.

7° Jamais une injection sous-cutanée, à dose thérapeutique (1 c.c. par kilogramme), n'a provoqué de perte de poids sensible.

8° Jamais pareille dose n'a provoqué d'albuminurie.

9° Mais elle peut faire varier la quantité totale d'urine, ainsi que les quantités absolue et relative de l'urée, des phosphates et des chlorures.

10° Les modifications de l'urine diffèrent de celles que l'on obtient après l'injection de la toxine diphtérique.

11° Les troubles thermiques, circulatoires et respiratoires causés sur le chien par l'injection du sérum, ou par l'injection intraveineuse de la toxine, offrent de très grandes analogies.

12° L'étude minutieuse de ces troubles ne permet pas non plus de relever de différence entre le sérum normal et le sérum antidiphtérique.

13° Le pouvoir antitoxique du sérum antidiphtérique ne se manifeste donc qu'en présence de la toxine *in vitro* ou qu'au contact d'un organisme sous le coup du bacille de Lœffler.

14° Dans le mélange *in vitro*, les propriétés du sérum et de la toxine se neutralisent réciproquement.

15° La neutralisation se constate par l'étude de la circulation, de la respiration, de la température et de la sécrétion urinaire chez les sujets qui reçoivent le mélange de la toxine et du sérum dans le tissu conjonctif.

16° Si le sérum est administré après l'apparition des effets de la toxine introduite dans le sang, ses effets nocifs s'ajoutent à ceux de même nature qui sont l'apanage de la toxine.

17° L'influence du sérum sur l'organisme du diphtérique se rapproche donc du synergisme médicamenteux et non de l'antagonisme.

18° L'action du sérum dans l'organisme ne doit pas être nécessairement rapprochée de son action sur la toxine *in vitro*.

19° L'effet neutralisant *in vitro* résulte probablement de réactions chimiques.

20° Ces réactions entraînent la formation de produits nouveaux différents du sérum et de la toxine.

*Février 1899.*

# Die Immunisation gegen die Rinderpest nach den im Institut für experimentelle Medicin in St-Petersburg und auf der Station « Iknewi » im Gouvernement Tiflis gesammelten Erfahrungen.

VON

M. NENCKI, N. SIEBER UND W. WYZNIKIEWICZ.

Unsere Untersuchungen über die Rinderpest, die auf Veranlassung des Curators des Institutes für experimentelle Medicin in St-Petersburg, S. H. des *Prinzen A. P. von Oldenburg*, im Sommer des Jahres 1895 im Lande der Kubanschen Kosaken unternommen wurden, hatten den doppelten Zweck : einerseits die Aetiologie der Rinderpest aufzuklären; andererseits Mittel zu finden, um die Verbreitung dieser Krankheit zu verhüten, eventuel sie zu heilen. Die Resultate der Untersuchungen über den ersten Theil unserer Aufgabe haben wir in dem russichen Archiv für Veterinärkunde, Jahrgang 1896 und 1897, in der Berliner klinischen Wochenschrift, Jahrgang 1897, N° 26, sowie im Centralblatt für Bacteriologie, Bd 23, S. 529 und zuletzt ausführlich in den vom Institute herausgegebenen Archives des Sciences biologiques, Bd. 6, N° 4, veröffentlicht.

Was den zweiten Theil unserer Aufgabe betrifft, so haben wir schon im Jahre 1896 die Beobachtung publicirt, dass im Blutserum von Thieren, die die Rinderpest überstanden haben, ein Schutzstoff enthalten sei, der gesunden Thieren beigebracht, sie gegen die Infection mit Rinderpest unempfänglich macht. Es wurde dadurch zwar der Weg gefunden, auf dem ein Erfolg zu erhoffen war, es bedürfte aber noch vieler Versuche, um die zweckmässigste Methode auszuarbeiten; denn das Serum von Thieren, die einfach die Pest überstanden haben, war viel zu schwach. Wir suchten nun, ähnlich wie bei der Darstellung des Heilserums gegen Diphterie, des Antistreptococcenserums u. s. w., durch Injection von immer grösseren Mengen des Virus die Immunität unserer Thiere zu erhöhen.

Von grossem Nutzen waren uns daher die in unserer Abtheilung für Herstellung der Heilsera gemachten Erfahrungen, denn die Entnahme des Blutes, Verhinderung seiner Gerinnung, Abscheidung des Serums und viele kleinere technische Handgriffe mussten wir speciel für die Rinderpestimmunisation erst neu ausarbeiten. Der Zufall wollte es, dass bald darauf auch andere Forscher, anlässlich der in *Süd-Afrika* ausgebrochenen Epidemie, sich mit der Herstellung eines wirksamen Serums gegen die Rinderpest beschäftigt haben, was uns eine willkommene Bestätigung unserer Beobachtungen war, da wir in beschränkten Räumen des Institutes für experimentelle Medicin arbeitend, unmöglich über ein grösseres Versuchsmaterial verfügen konnten.

Im Laufe des Jahres 1897, haben wir sowohl von Rindern, wie auch von Ziegen und Schafen, grössere Quantitäten von starkem Serum hergestellt und dessen immunisirende und heilende Wirkung erprobt. Nach erfolgter Einwilligung des *Curators* des Institutes und Einverständniss mit dem *Ministerium des Inneren* begab sich der eine von uns (W. Wyznikiewicz), Ende des Jahres 1897, nach dem südlichen Kaukasus, wo die Rinderpest endemisch ist, und es gelang ihm in kurzer Zeit mit Hülfe des Herrn Ingenieurs A. E. Sesemann, wofür wir ihm zu besonderem Danke verpflichtet sind, und mit Unterstützung der localen Behörden im Gouvernement *Tiflis,* in einer Gebirgschlucht, 18 Werst von der Kreisstadt *Gori* in der Ortschaft *Iknewi* eine Versuchsstation zu errichten, so dass er schon im Februar 1898 mit dem aus Petersburg mitgebrachtem Serum die Immunisationsversuche an einer grösseren Anzahl von Thieren vornehmen konnte. Gleichzeitig wurde ihm die Aufgabe gestellt, auch die von R. Koch empfohlene Schutzimpfung mit Galle pestkranker Thiere nachzucontrolliren, da auf Grund unserer Beobachtungen in Petersburg wir, wie es sich auch später zeigte, gerechte Bedenken gegen die praktische Verwendbarkeit dieser Methode hatten. Auch sollten noch die von früheren russischen Forschern wie Jessen, Raupach und Semmer angewandten Schutzimpfungen, namentlich mit durch Wärme abgeschwächtem Pestmaterial, bei verbesserter Technik, von neuem erprobt werden. Schon Ende April 1898 konnte Herr Wyznikiewicz über die vorzüglichen Erfolge der Serumbehandlung berichten. Ende Juli 1898, begaben wir uns ebenfalls nach der Station *Iknewi,* um gemeinschaftlich diese Untersuchungen fortzusetzen. Im Oktober 1898, kam nach *Iknewi* eine vom Ministerium des Inneren eingesetzte Commission, um das von uns vorgeschlagene Immunisirungsverfahren nachzuprüfen, bestehend aus den Herren: Professor W. E. Worontzow, Vorsitzender im Veterinär-

comité des Ministerium des Inneren; Magist. Vet. A. M. RUDENKO, Chef der Veterinärabtheilung der medicinischen Militärverwaltung; Magist. Vet. N. I. EKKERT, berathendes Mitglied des Veterinärcomités; Mag. Vet. M. O. GORDZIALKOWSKI, Chef des Veterinärlaboratoriums des Ministerium des Inneren; N. N. KRÜDNER, Gubernialveterinär von Tiflis und M. P. GEORGINSOHN, Gubernialveterinär von Kutais. Am Schlusse eines ausführlichen an das Ministerium des Inneren abgestatteten Berichtes vom 10 December 1898 constatirte die Commission, dass die Serumimmunisation gegen die Rinderpest ausser allem Zweifel steht und mit einer 2/3 Majorität empfiehlt sie die sofortige Errichtung einer Station für Herstellung des Serums und die Einführung der Serumimmunisation in den südlichen und östlichen Districten Russlands, wo die Rinderpest von der türkischen, persischen und chinesischen Grenze ständig eingeschleppt wird. Nach unserer Rückkehr nach Petersburg — Ende December 1898 — erhielten wir Kenntniss von der eben erschienenen Arbeit von KOLLE und TURNER (1) über die Serumimmunisation in Afrika. Wir werden weiter unten auf diese Publication zurückkommen.

Seit Februar bis Ende des Jahres 1898, wurden auf der Station *Iknewi* über 800 Thiere : Rinder, Büffel, Ziegen und Schafe geimpft. Die Thiere wurden gruppenweise in offenen Umzäumungen, hier zu Lande « *Bas* » genannt, gehalten. Erst mit Eintritt der kalten Jahreszeit in der 2ten Hälfte November und December, wurden die namentlich gegen Kälte sehr empfindlichen Büffel unter Dach in s. g. « *Bujwoliatniki* » gehalten, ein mit Dach versehener Holzverschlag, dessen Dach und Wände mit Erde bedeckt werden. Das zu den Versuchen verwendete Vieh wurde in den benachbarten Bergdörfern des *Osictiner* — in welchen seit 12 Jahren kein Fall von Rinderpest vorgekommen war — angekauft, so dass wir bei unseren Versuchen sicher mit Thieren, die nie etwa früher Pest überstanden hatten, zu thun hatten. In der That, mit Pestblut geimpft oder mit pestkranken Thieren gestellt, sind sie uns immer an Pest erkrankt, und die Mortalität betrug mehr als 96 %. Ausser dem Bergvieh hatten wir noch von einem Farmer uns angebotene für die Milchproduction besonders geschätzte Thiere der s. g. deutschen Rasse, sowie auch in den Grenzdörfern angekauftes türkisches Vieh immunisirt. Die Schafe in *Grusien* (Juschinska à paroda) gehören der Fettschwanzrasse (Kurdüki) an, die sich bezüglich der Empfänglichkeit und Verlauf der Pesterkrankung in vielen Punkten von den Merinoschafen, mit denen wir in Petersburg vorwiegend zu

(1) Zeitschrift für Hyg. und Infect.-krankh., Bd. 29, S. 309.

thun hatten, unterscheiden. Die *Vorrath*'s-,sowie die immunisirten Thiere befanden sich etwa 5 Kilometer entfernt in den Bergen; auf der Versuchsstation nur diejenigen, mit denen gerade experimentirt wurde. Wir können indessen die Angabe von R. Koch, dass die Rinderpest nur durch Contact übertragen wird, durchaus bestätigen. Trotz der ausserordentlichen Empfänglichkeit des Rindes, können pestkranke und gesunde Thiere in einer offenen Umzäumung nur durch eine Bretterwand, die etwa um 1/2 Meter die Kopfhöhe der Thiere überragt, getrennt von einander gehalten werden und zwar Monate lang, ohne dass die gesunden Thiere sich inficiren. Die Hauptbedingung ist, dass die kranken und gesunden Thiere von verschiedenen Wärtern besorgt werden und jede directe Uebertragung, sei es durch Schuhzeug, Kleider und Hände der Wärter, oder durch das Futter, Getränk und dergleichen mehr, ausgeschlossen ist. In *Iknewi* hatte jede Umzäumung ihren eigenen Wärter. Vor der Eingangsthür befand sich eine Wanne und ein Eimer mit 2 pro mille Sublimatlösung und ein paar hohe Gummi Schuhe. Das Personal war streng angewiesen, nie anders als wie in Gummi Schuhen die Umzäumung zu betreten und nach Verlassen derselben, Hände und Schuhe gründlich zu desinficiren. Die Körpertemperatur wurde bei allen Thieren morgens und abends gemessen und über jedes Thier ausser der Temperatur jeden Tag alles Bemerkenswerthe in ein Buch eingetragen. Für die Blutentnahme und andere Operationen war ein besonderer Raum eingerichtet und die Thiere an einem Gerüste mittelst Flaschenzuges und passender Gürtel horizontal schwebend aufgehängt, welche Vorrichtung sich als sehr zweckmässig erwies. Wir haben bei der Einspritzung von Blut, Galle oder Serum die Thiere nie gefesselt. Streicheln und Zureden genügten meistens, um das Thier zu beruhigen. Höchstens besonders wilde Thiere, wie z. B. junge Büffel, wurden an einem Pfosten kurz angebunden und von Knechten festgehalten. Auf der Station war ein kleines chemisch-bacteriologisches Laboratorium eingerichtet, das allen Anforderungen genügte. Wir hatten allerdings kein Gas und benutzten Spiritus- oder Petroleumlampen. Sehr zweckmässig erwiesen sich dabei die von *Sartorius* in Göttingen construirten und mit Petroleum heizbaren Thermostaten mit *Simplexregulirung*.

Im Interesse der Uebersichtlichkeit, halten wir es für zweckmässiger, die vielen Versuche, die wir zur Beantwortung der verschiedensten Fragen im Laufe der 4 Jahre angestellt haben, nicht einzeln anzuführen. Wir wollen nur möglichst präcise die von uns erprobten Immunisirungsverfahren beschreiben, und im Laufe der Beschreibung unsere mehr theoretischen oder auf die Aetiologie bezüglichen Beobachtungen

einschalten. Wir beginnen mit der Beschreibung der Serumimmunisation und gehen dann zu den Gallenimpfungen und Immunisation mit abgeschwächten Culturen über.

## Die Gewinnung des Serums gegen die Rinderpest.

Das Antipestserum wird im Körper der Thiere gebildet, die die Pest überstanden und durch fortgesetzte Injectionen virulenten Pestmaterials zu immer weiterer Bildung des Antikörpers angeregt werden. Es ist möglich, dass der Rinderpestmikrobe wasserlösliche Toxine bildet, obgleich unsere darauf bezüglichen Versuche negative Resultate ergeben haben. Aus weiter unten anzugebenden Gründen erachten wir das Schutzserum nicht als antitoxisch, sondern als mikrobicid. Je schwerer die erste Erkrankung war, um so weniger reagirt das Thier auf relativ grössere Mengen des injicirten virulenten Pestmaterials, respective um so mehr hat es bei der erster Erkrankung von dem Antikörper in seinem Organismus gebildet. Die Erfahrung hat uns auch gezeigt, dass für die Gewinnung des hochwerthigen Serums, die für Pest besonders empfindlichen Rassen vorzugsweise geeignet sind. Wir wählten für diesen Zweck kräftige, gesunde, 3 bis 5 Jahre alte Thiere der s. g. rothen oder deutschen Rasse. Als Impfmaterial benutzen wir ausschliesslich Blut, das auf der Höhe der Krankheit kurz vor Abfall der Temperatur, pestkranken Thieren entnommen wurde. Die von uns ermittelten biologischen Eigenschaften des die Rinderpest hervorrufenden Mikroben, haben uns die Ueberzeugung beigebracht, dass bei der ausserordentlichen Schwierigkeit ihn zu cultiviren und bei seiner grossen Empfindlichkeit auch gegen sonst ganz indifferente Mittel, die Herstellung von Culturen von constanter Wirkung vorläufig noch nicht ausführbar ist. Organextracte (von Magen oder Darmschleimhaut, Leber, Milz, Niere, u. s. w.) pestkranker Thiere eignen sich für die Impfungen weniger, da sie häufig ausser dem specifischen Pestmikroben noch verschiedene zum Theil pathogene Spaltpilze enthalten.

## Die Blutentnahme.

Zum Zwecke der Impfung und Immunisation, sowie zur Gewinnung des Heilserums, ist es nothwendig, Blut in grösseren Quantitäten von lebendigen Thieren zu entnehmen. Uebersichtshalber geben wir hier zunächst die von uns angewendeten Methoden :

A) *Zur Entnahme des Blutes von pestkranken Thieren* und B) *zur Entnahme des Blutes von immunen Thieren behufs Gewinnung des Serums.*

A) Für die mikroskopische Untersuchung des Blutes oder wenn nur

wenige Thiere zu inficiren sind, entnehmen wir das Blut der Ohrvene mittelst einer scharfen Canüle nach erfolgter Desinfection der Ohrmuschel direct in einen kleinen sterilen Messcylinder oder Reagenzglas. Es werden so leicht 5 bis 10 c.c. Blut erhalten. Bei der Immunisation im grossen oder für hoch immune Thiere, wo auf einmal mehrere Liter Pestblut injicirt werden, ist es wünschenswerth, von pestkranken Thieren möglichst alles Blut zu gewinnen. Wir verwendeten stets Blut vom 3ten bis 5ten Fiebertage, aber wo möglich vor Abfall der Temperatur. Das Thier wurde in dem eben erwähnten Gerüste mittelst Gürtel an dem Flaschenzuge befestigt, in die Höhe gehoben und in solcher hängenden Stellung unter der Anwendung der Antiseptik die Jugularvene und die Carotis herauspräparirt; in die Gefässe werden Canülen mit Kautschukschläuchen eingebunden und das Blut wird, anfangs aus beiden Venen und bei Verlangsamung des Stromes aus den Carotiden, in hohe mit Kautschuckkappen versehene sterilisirte Cylinder zu 500 c.c. Inhalt, aufgefangen. Das aus der Ader fliessende Blut gerinnt bekanntlich bald und ist als solches für subcutane Injectionen nicht geeignet. Durch Schlagen mit Quirl, einem Metall- oder Glasstabe, wird es defibrinirt und kann es durch Filtriren durch ein Sieb oder Mousselin frei von Fibrin erhalten werden. Man kann aber das Blut flüssig erhalten durch Auffangen in concentrirter ClNa-lösung und zwar so, dass das Gemisch 3 % Kochsalz enthält, oder durch Auffangen in eine Lösung von Natriumoxalat, so dass das Gemisch 1 pro mille oxalsaures Natrium enthält.

Im ersten Falle giesst man in die Cylinder zu 500 c.c. Inhalt 50 c.c. kaltgesättigte, sterile Kochsalzlösung, lässt das Blut direct in die Salzlösung fliessen und rührt einige Minuten mit einem Glasstabe um, damit das Salz gleichmässig in der Flüssigkeit vertheilt ist.

Will man das Blut durch Natriumoxalat flüssig erhalten, so werden 10 gr. neutrales oxalsaures Natron in 400 c.c. heissen Wassers gelöst, filtrirt und von der sterilen Lösung für je einen Cylinder von 500 c.c. Inhalt, 20 c.c. der Natriumoxalatlösung verwendet. Es ist zweckmässig, kurz vor dem Auffangen des Blutes durch Neigung des Cylinders die Wände zu benetzen. Auch hier genügen wenige Minuten des Umrührens, um das Blut mit der Oxalatlösung gleichmässig zu vermischen.

Das nach einem von diesen drei Verfahren erhaltene flüssige Blut hat nicht die gleichen Eigenschaften. Das selbst durch halbstündiges Schlagen defibrinirte Blut bildet im Laufe der nächsten Stunden noch immer Gerinnsel, so dass es erneuerter Filtration durch Mousselin bedarf und trotzdem, bei Injectionen grösserer Blutmengen, verstopfen die feinen

Gerinnsel die Canüle. Ferner schliesst das entstandene Fibringerinnsel eine grosse Menge rother Blutzellen und damit auch den Pestmikroben ein, wodurch das Blut weniger virulent wird. Auf Grund von Untersuchungen, auf die wir später zurückkommen werden, halten wir dafür, dass in den ersten Fiebertagen der Pestmikrobe nur in den Blutzellen enthalten ist und erst gegen Ende der Erkrankung in das Plasma übergeht. Das durch Kochsalz erhaltene, flüssige Blut ist mehr virulent; auch längere Zeit haltbar, hat aber den Nachtheil, dass Injectionen grösserer Mengen solchen Blutes für die Thiere schmerzhaft sind und an der Injectionsstelle Infiltrate entstehen. Alle diese Uebelstände sind beim Oxalatblut nicht vorhanden, so dass für Injectionen grösserer Blutmengen das in Natriumoxalat aufgefangene Pestblut am geeignesten ist. Handelt es sich aber um Injection kleiner Blutmengen, wie z. B. bei der Immunisation mit Pestblut und Serum, so ist das im Kochsalz aufgefangene Pestblut vorzuziehen. Die Anweisung, die die Herren KOLLE und TURNER in ihrer jüngsten Publication(1) zur Gewinnung des defibrinirten virulenten Blutes für die Farmer geben, lässt jeder fremden Infection Thür und Thor offen. Bei den gegen 800 Impfungen im freien Felde mit Pestblut, das in Kochsalz oder Natriumoxalat aufgefangen wurde, haben wir nie eine fremde Infection gehabt.

B) *Blutentnahme von immunisirten Thieren zur Gewinnung des Heilserums.*

Wir entnahmen den immunisirten Thieren auf einmal 2 bis 3 Liter Blut. Beim völligen Verbluten liefert ein erwachsenes Rind von 300 bis 500 Kilo Körpergewicht, 12 bis 15 Liter Blut; ein erwachsenes Schaf 1,5 bis 2 Liter.

Das Blut wurde aus der Jugularvene mittelst eines Troicart entnommen und direct in sterile Cylinder von 500 c.c. Inhalt an der Glaswand rasch fliessen lassen, wobei die Kautschuckkappe des Cylinders nur so weit gelüftet wird, um Raum für den Kautschuckschlauch zu lassen. Man verschliesst hierauf sofort mit der Kappe und lässt die mit Blut gefüllten Cylinder an einem ruhigen, auf 25—30° erwärmten, Orte 24 Stunden lang stehen. Entgegen der gangbaren Vorstellung ist es zweckmässig, speciel für das Rinderblut, damit das Serum sich gut abscheidet, nicht in der Kälte, sondern bei der oben bezeichneten Temperatur stehen zu lassen. Nach 24 stündigem Stehen wird das abgeschiedene Serum mit 1/10 seines Volums 5 °/₀ iger Phenollösung versetzt, gut umgeschüttelt und in dunklen Flaschen an einem kühlen Ort

(1) Loc. cit., S. 351.

aufbewahrt. Zu dem Blutgerinnsel werden einige Stückchen Kampfer zugesetzt und bei der obengenannten Temperatur stehen gelassen. Am 2—3 und 4ten Tage presst der Blutkuchen noch etwas Serum heraus, das abgegossen und mit Phenollösung wie oben versetzt wird. Man erhält auf diese Weise aus Rinderblut nie unter 50 % Serum; nach wiederholten Aderlässen, wo das Blut ärmer an morphotischen Bestandtheilen wird, haben wir von immunen Thieren zwischen 60—70 % Serum erhalten.

Auf gleiche Weise wird das Schaf- und Büffelserum gewonnen. Aus Büffelblut scheidet sich das Serum sofort ab und ist seine Menge stets grösser, als aus Rinderblut. Büffelblut giebt 60—75 % Serum. Auch das Schaf- und Ziegenblut scheiden unter den obigen Verhältnissen über 60 % Serum ab. KOLLE und TURNER (l. c., 347) geben an, durch Gerinnenlassen des Blutes im Durchschnitt nicht mehr als 33 % Serum erhalten zu haben.

Durch Centrifugiren des defibrinirten Blutes hätten sie 76—80 % Serum erhalten, d. h. ungefähr die gleiche Menge, die wir durch Stehenlassen bei 25—30° aus nicht defibrinirtem Blute erhalten haben. Wir haben unser immunes Blut nicht centrifugirt. Bedenkt man aber, dass das Blut zuerst defibrinirt, hiernach centrifugirt wird, so ist das Blut beim einfachen Stehenlassen weniger der Verunreinigung ausgesetzt. Das Zweckmässigste dürfte sein, das immune Blut zur Behinderung der Gerinnung in Natriumoxalatlösung aufzufangen und es dann zu centrifugiren. In Vacuum bis 35°—40° verdunstet, wird das Serum in fester Form erhalten und ist in Wasser langsam aber vollkommen, mit schwacher Opalescenz, löslich. Ueber die Haltbarkeit des trockenen Serums können wir keine bestimmten Angaben machen, obgleich nach Analogie mit trockenem Diphterieserum eine noch grössere Haltbarkeit als in flüssigem Zustande zu erwarten ist. Flüssiges Serum gegen die Rinderpest ist über ein Jahr ohne Veränderung haltbar.

## Die Gewinnung des Heilserums.

Das zu immunisirende gesunde Thier wird mit 0,2 c.c. virulenten Pestblutes inficirt. Durch vielfache Versuche haben wir uns überzeugt, dass 0,2 c.c. Pestblut vollkommen genügen, um eine Erkrankung mit letalem Ausgange hervorzurufen. Die Infection mit so geringen Mengen Pestblutes hat den grossen Vortheil, dass die Gefahr der Infection durch andere pathogene Mikroben auf ein Minimum reducirt wird. 2 Stunden später, also zu einer Zeit, wo man annehmen kann, dass das injicirte Virus sich im ganzen Körper vertheilt hat, erhält das Thier eine derart abge-

messene Menge Heilserums, dass es wohl eine schwere Erkrankung bis zur Bildung von Erosionen und Durchfall durchmacht, jedoch nicht infolge der Erkrankung cachektisch wird. Etwa 10 bis 14 Tage, nachdem das Rind die Krankheit überstanden und sich vollkommen erholt hat, wird es der weiteren Immunisation unterworfen, die auf 2 verschiedene Weise geschehen kann.

1) Nach dem ersten Verfahren, das wir als *schnelle Immunisation* bezeichnen, erhält ein erwachsenes Thier von 300 bis 500 Kilo Körpergewicht, je nach der Schwere der ersten Erkrankung, 500 bis 1500 c.c. Pestblut an verschiedenen Körperstellen, worauf es in der Regel am $4^{ten}$ bis $6^{ten}$ Tage von neuem mit Temperatursteigerung von 40 bis 41° mehrere Tage reagirt. 2 bis 3 Wochen nach dieser zweiten Injection werden ihm, wenn an den Injectionstellen keine Infiltrate mehr vorhanden sind, die Temperatur normal ist und das Thier sich sichtlich erholt hat, wiederum 3 bis 5 Liter Pestblut injicirt. Reagirt jetzt das Thier nach 4 bis 8 Tagen nicht mit Temperaturerhöhung, so entnimmt man ihm mittelst Troicart aus der Jugularvene die ersten 2 bis 3 Liter Blut, das ein Serum giebt, wovon in der Regel 40 c.c. genügen, um 0,2 c.c. Pestblut im Thier vollkommen zu neutralisiren. Am gleichen oder einige Tage später, injicirt man dem Versuchsthier 4 bis 6 Liter Blut, worauf nach erfolgter Erhohlung von neuem aus der Jugularvene Blut zur Serumgewinnung entzogen wird. Nun kann die Injection von Pestblut von neuem beginnen, worauf neue Blutentnahmen u. s. w. folgen.

Mehr als 6 Liter Blut haben wir grossen Thieren bis jetzt nicht injicirt; auch sind die Zeitintervalle für die späteren Injectionen von Pestblut immer grösser. Auf die Weise wird schon 2 Monate nach der ersten grösseren Bluteinspritzung ein Serum gewonnen, wovon 20 c.c. genügen, um nach Infection mit 0,2 c.c. Pestblut gesunde Thiere ohne sichtbare Reaction, oder mit kurz dauernder Temperatursteigerung, zu immunisiren. Wird die für 0,2 c.c. Pestblut genügende Menge Serum selbst wenige Stunden vor der Infection mit Pestblut injicirt, so ist die Immunisation nicht sicher. Injicirt man das Serum später als 3 Stunden, z. B. 6—12—24 Stunden nach der Infection mit 0,2 c.c. Pestblut, so bedarf es, um gleichen Effect zu erzielen, schon grösserer Serummenge. Injicirt man das Serum 2 bis 6 Tage vor der Infection, so erkranken die Thiere schwer und können an der Pest zu Grunde gehen. Werden Rinder mit 0,2 c.c. Pestblut inficirt und injicirt man zu gleicher Zeit das Serum, so kommt es vor, dass die Thiere gar nicht reagiren, werden aber nicht immun. Offenbar wird in solchen Fällen der injicirte Mikrobe vollkommen

getödtet, respective unschädlich gemacht. Die Herren Kolle und Turner, welche die gleichzeitige Injection von Virus und Serum empfehlen, injiciren allerdings viel grössere Mengen des Virus, nämlich 1,0 c.c. Pestblut. Sie erachten die sogenannte Reaction, d. h. Erkrankung des Thieres, für erwünscht, damit das Thier immun werde. Nach unseren Beobachtungen ist eine sichtbare Erkrankung, damit ein Thier immun wird, durchaus nicht nothwendig und können Thiere hoch immun werden, ohne andere Erkrankung als wie eine vorübergehende Temperatursteigerung durchgemacht zu haben.

2) Nach dem zweiten Verfahren, das der *langsamen Immunisation*, ist es nicht durchaus nöthig, dass die Thiere nach der ersten Injection mit 0,2 c.c. Pestblut stark reagiren; es genügt, wenn die erste Erkrankung ganz milde verläuft; 2 Wochen nach der Infection erhält das Thier 1,0 c.c. Pestblut; 2 Wochen später 10 c.c.; dann alle 2 bis 3 Wochen 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000 bis 4000 c.c. Erst nach dieser letzten Injektion geschieht die erste Blutentnahme, worauf das Thier von neuem 4 bis 5 Liter Pestblut erhält u. s. w. Auf diese Weise erhält man zwar erst nach 5 bis 6 Monaten das erste Serum, wovon aber, je nach der Individualität des Thieres, 10 bis 20 c.c. genügen, um nach der Infection mit 0,2 c.c. Pestblut ein Thier ohne sichtbare Reaction zu immunisiren.

Der Vortheil dieser Methode liegt darin, dass die Thiere fast reactionslos, nur mit kurzdauernden Temperatursteigerungen, die ganze Immunisirung ertragen, viel längere Zeit für die Serumgewinnung dienen können und ein stärkeres Serum liefern.

Durch besondere Versuche haben wir constatirt, dass von den immunen Thieren das subcutan injicirte Pestblut sehr rasch entgiftet wird, so enthielten z. B. zwei immune Kälber von 90, respt. 120 Kilo Körpergewicht nach Injection von 1, resp. 3 Liter Pestblut, nur in den ersten 12 Stunden in ihrem eigenem Blute den virulenten Pestmikroben, d. h. ihr Blut, in Dosen von 5 bis 15 c.c. gesunden erwachsenen Rindern injicirt, hatte eine tödtliche Pesterkrankung zur Folge. 24 Stunden nach subcutaner Injection des Pestblutes war das Blut des immunen Thieres nicht mehr virulent.

Wir hielten es für möglich, dass das Blut immuner Kälber nach der Injection von grösseren Quantitäten Pestblut in verschienenen Zeitintervallen entnommen und in verschiedenen Quantitäten gesunden Thieren injicirt, die letzteren gegen die Rinderpest immunisiren würde. Wir erwarteten, dass die im lebendigen Körper durch das mikrobicide Serum in den ersten Stunden abgeschwächten Mikroben, gesunden Thieren

injicirt, nur eine leichte Erkrankung hervorrufen würden, welche eine Immunität zur Folge haben sollte. Um diese Frage zu entscheiden, wurde folgender Versuch gemacht :

Von den beiden oben genannten Kälbern, die nach dem Verfahren der schnellen Immunisation behandelt wurden und die dritte Pestblut-injection bekommen haben — Kalb 90 kilo schwer erhielt 1 Liter; Kalb 120 Kilo schwer erhielt 3 Liter Pestblut — wurden von N° 1, 8 Stunden nach der subcutanen Injection des Pestblutes, 100 c.c. Blut aus der Jugularvene in gesättigte Chlornatriumlösung entnommen und sofort an zwei 2 jährigen Kälbern je 5 resp. 10 c.c. subcutan injicirt. Am nächsten Tage wurde dem Kalbe N° 2, — 120 kilo schwer — 3 Liter Pestblut subcutan injicirt und 12 Stunden später Blut aus der Jugularvene in ClNa-lösung entnommen und wiederum 2 Kälbern je 5 resp. 10 c.c. subcutan injicirt. Alle 4 Thiere erkrankten am 4ten resp. am 5ten Tage und starben an der Pest.

Am gleichen Tage, d. h. 24 Stunden nach der Injection des Pestblutes, wurden dem Kalbe N° 1 wiederum 100 c.c. Blut entnommen und 2 Kühen je 10 resp. 20 c.c. subcutan injicirt. Die beiden Thiere erkrankten nicht. Ebenso erkrankten die Thiere nicht, welche das aus der Jugularvene entnommene Blut von immunen Kälbern am 2ten, 4ten, 5ten und 6ten Tage nach der Injection des Pestblutes Dosen von 10 bis 30 c.c. erhalten haben. Alle diese Thiere wurden jedoch nicht immun, denn als sie nach 10, 14, 30 Tagen je 0,2 c.c. Pestblut subcutan erhielten, erkrankten sie alle schwer und von 22, zu diesem Versuche verwendeten Rindern starben, mit Ausnahme von 6 Thieren, alle übrigen an der Pest.

### Bestimmung der Stärke des Serums.

Je nach der Dauer der Immunisation, resp. der Menge des injicirten virulenten Blutes und der Individualität des Thieres, ist der Gehalt an Schutzstoff im Serum immunisirter Thiere verschieden. Aus praktischen Gründen, wie sie sich uns auf der Station in *Iknewi* ergeben haben, unterscheiden wir ein schwaches, ein mittelstarkes und ein starkes Serum. Als schwaches bezeichnen wir ein solches Serum, wovon 40—50 c.c. nothwendig sind, um eine schwere Erkrankung, d. h. Erosionen und Durchfall, zu verhindern nach der Infection eines Thieres mit 0,2 c.c. Pestblut, wenn dieses Serum 2 Stunden nach erfolgter Infection dem Thiere subcutan eingespritzt wird. *Starkes Serum* nennen wir solches wovon 10 bis 20 c.c. genügen, um den gleichen Effect zu erzielen. Bevor wir aber das von uns geübte Verfahren, die Stärke des Antipestserums zu

bestimmen, beschreiben, halten wir es für nöthig, einige hierauf bezügliche Beobachtungen vorauszuschicken. Wir sagten schon oben, dass das Serum gegen die Rinderpest nicht antitoxisch, sondern mikrobicid sei. Wir wollen jetzt die von uns experimentel ermittelten Thatsachen, die uns für die Ansicht bestimmten, hier anführen.

1) Extracte von Organen pestkranker Thiere — 3 bis 5 Kilo Leber, Milz, Niere, Muskel, klein zerhackt und mit doppeltem Volumen physiologischer Salzlösung extrahirt — durch *Chamberland*'sche Kerzen filtrirt, in Dosen von 300—500 c.c. Kälbern und Schafen, auch anderen Thieren, wie Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen, unter die Haut eingespritzt, waren ohne jede schädliche Wirkung. Es wäre nun möglich, dass ähnlich wie z. B. das *Abrin*, auch das Toxin der Pestmikroben durch *Chamberland*'sche Kerzen nicht filtrirt, d. h. zurückgehalten wird(1). Wir haben daher aus dem Pestblute das Plasma von den Blutzellen getrennt und 100 c.c. des Plasmas, dem 0,5 °/₀ Phenol zugesetzt wurde, einem halbjährigen Kalbe subcutan injicirt. Das Thier vertrug die Injection ohne jede sichtbare Reaction, ohne Temperaturerhöhung und blieb vollkommen gesund bei einer Beobachtungsdauer von 3 Wochen. Da die Versuche mit dem Pestplasma auch in anderer Hinsicht von Interesse sind, so wollen wir sie hier ausführlicher beschreiben.

Das Blut von pestkranken Rindern auf der Höhe der Krankheit — Erosionen in der Mundhöhle und beginnender Durchfall — entnommen, gerinnt zu einem ganz festen, zähen Kuchen und scheidet, weder in der Kälte noch bei 25—30°, auch nach 5—6 tägigem Stehen, kein Serum ab.

Wurde das Blut in gesättigter Kochsalz- oder in Oxalatlösung aufgefangen, so blieb es flüssig, aber es erfolgte auch nach 6 Tagen keine Abscheidung von Serum. Die Blutkörperchen senken sich nicht. Auch, als das Pestblut defibrinirt und das Gerinnsel entfernt wurde, erstarrte es doch nach 24 Stunden zu einer festen Masse, ohne Serum abzuscheiden. Man kann aber Plasma, allerdings in verdünntem Zustande, ganz frei von morphotischen Elementen auf folgende Weise leicht erhalten: In einen hohen Cylinder von 500 c.c. Inhalt, giesst man eine Lösung von 15,0 gr. Kochsalz in 333 c.c. Wasser und lässt direct aus der Ader 167 c.c. Blut von einem pestkranken Thiere einfliessen; rührt einige Minuten um und lässt bei 25—30° ruhig stehen. In den 500 c.c. des Gemisches, das 3 °/₀ Kochsalz enthält, senken sich die Blutkörperchen zu Boden, so dass nach 24 Stunden eine obere, etwa 6 c.c. hohe, durch-

(1) DE CHRISTMAS: Annales Pasteur. Bd. 11, Seite 95.

sichtige, etwas gelb gefärbte Schicht sich befindet. Nach 2 mal 24 Stunden ist die Schicht doppeltt so gross. Sie wird abgehoben und durch einen doppelten gehärteten, nicht befeuchteten Filter von den darin suspendirten, weissen Blutzellen abfiltrirt. Man kann auch durch Auffangen des Pestblutes in das gleiche Volumen 6 % iger Kochsalzlösung ein Plasma, das nur halb mit Salzwasser verdünnt ist, erhalten. Die Menge des oben abgeschiedenen Plasmas ist dann aber nie sehr gross, so dass wir zu unseren Versuchen vorzugsweise das Filtrat, das nur zu ein drittel aus Plasma bestand, benutzten. Wir wollten zunächst sehen, ob das blutkörperchenfreie Plasma infectiös ist. Wir benutzten zu diesen Versuchen 2 Kühe, die anlässlich eines anderen Versuches als Controle mit 0,2 c.c. Pestblut inficirt waren. Die eine von den Kühen war schon im Stadium des Temperaturabfalls, und nachdem wir von ihr in oben bezeichneteter Weise 500 c.c. Blut entnommen hatten, verendete sie 18 Stunden später. Die 2te von den Kühen hatte seit 3 Tagen hohe Temperatur und im Momente der Blutentnahme auch bläschenförmige Auflagerungen auf der Lippe, jedoch keinen Durchfall. Sie starb 3 Tage nach der Blutentnahme an der Pest. Von der ersten Kuh erhielten 2 Kälber das nach 65 Stunden abgesetzte und durch gehärtete Filter filtrirte Plasma; 2 andere Kälber erhielten dasselbe Plasma, jedoch nicht filtrirt, das also ziemlich viel weisse, aber keine rothe Blutzellen enthielt. Alle 4 Kälber erhielten 15 c.c. des Filtrates, entsprechend 5 c.c. unverdünnten Plasmas. Am 5ten Tage erkrankten alle 4 Thiere mit Abendtemperaturen von 41,1—40,7—41,1 und 41,2, und starben alle 4 bis 6 Tage später. Von der 2ten Kuh, von welcher das Blut in früherem Stadium der Krankheit entnommen wurde, erhielten 2 Kälber 30 Stunden nach der Blutentnahme ebenfalls je 15 c.c. des Filtrates = 5 c.c. unverdünten Plasmas, blieben aber gegen unsere Erwartung vollkommen gesund, zeigten nie eine Temperaturerhöhung über die Norm und als sie, 10 Tage nach der Plasma-injection, mit 0,2 c.c. Pestblut inficirt wurden, blieben sie ebenfalls gesund. Die Thiere wurden immun.

Bevor wir weitere Consequenzen aus diesen Versuchen ziehen, ist eine Wiederholung derselben nöthig. Für jezt wollen wir nur hinzufügen, dass ein drittes Kalb 150 c.c. des gleichen Filtrates = 50 c.c. Plasmas, am 5ten Tage nach der Blutentnahme subcutan erhielt und ebenfalls vollkommen gesund blieb, was wohl beweist, dass das durch Papier filtrirte Pestplasma keine löslichen giftigen Producte enthielt. Wie die Extracte von Pestorganen und das Pestblut verhält sich auch die Pestgalle. Wird Pestgalle, wovon einige c.c., Kälbern subcutan injicirt, schwere Pester-

krankung mit letalem Ausgange zur Folge haben, durch *Chamberland*'sche Kerze filtrirt, so ist die filtrirte Galle vollkommen unschädlich; übrigens verliert virulente Galle, vor Licht und Wärme geschützt, nach 12—14 Tagen ihre Virulenz. Ein sicheres Zeichen, dass die Virulenz der Galle nicht durch ein Toxin, sondern durch den Mikroben selbst, der nach dieser Zeit in der Galle abstirbt, bedingt ist. Während die Filtration uns die Abwesenheit eines wasserlöslichen Toxins zeigt, so spricht die Einwirkung der verschiedensten Reagentien auf das virulente Pestmaterial dafür, dass es hauptsächlich, wenn nicht ausschliesslich, der Pestmikrobe ist, welcher an Ort und Stelle in den Blutkörperchen und in den zelligen Organen seine deletäre Wirkung ausübt. Sodann zeigt uns die Einwirkung von Reagentien auf virulentes Pestmaterial, dass der Pestmikrobe zu den empfindlichsten und sehr leicht zu vernichtenden Mikroorganismen gehört.

Versetzt man frisches virulentes Pestblut mit etwa dem gleichen Volumen destillirten Wassers, um die rothen Blutzellen zu zerstören, so verliert solches Blut schon nach 4 bis 5 Tagen seine Virulenz. Noch auffallender ist das Verhalten des Pestblutes gegen gallensaure Alkalien. Die wässerige Lösung dieser Salze löst ebenfalls die Blutkörperchen auf und zwar in minimum bei einem Salzgehalt von etwa 0,5 %. Wird nun frisches virulentes Pestblut mit dem gleichen Volumen 1 % iger Lösung von glykochol-oder taurocholsaurem Natrium geschüttelt, so erfolgt, bei Anwendung des glykocholsauren Salzes, die Auflösung der rothen Blutzellen in wenigen Minuten und nur wenige bleiben unverändert. Natriumtaurocholat bewirkt die Lösung augenblicklich, obgleich auch hier ein geringer Bodensatz von unzerstörten Blutkörperchen hinterbleibt. — Offenbar ist es eine besonders widerstandsfähige Abart der Erythrocyten —. Solches Blut, das also nur 0,5 % iges gallensaures Alkali enthält, verliert sehr rasch seine Virulenz und ist nach 24 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur vollkommen ungiftig, so dass 10 c.c. des Gemisches ohne jeden Schaden einem Rinde injicirt werden können. Wir kommen auf diese Versuche weiter unten noch zurück. Dieses Verhalten des Pestmikroben im Blute spricht einerseits dafür, dass er in den ersten Tagen nach Ausbruch des Fiebers, allem Anscheine nach, nur in den Blutkörperchen enthalten ist und erst später in das Plasma übergeht; andererseits zeigt es uns, wie empfindlich er in seinen Lebensbedingungen ist, da er schon durch Wasser oder durch Zusatz eines neutralen Salzes, wie z. B. das gallensaure Alkali, geschädigt werden kann.

Die besten Erfolge hatte bis jetzt die Serotherapie da zu verzeichnen, wo es sich um Neutralisation der Toxine handelte, so bei dem

Schlangengift und der Diphtherie. Viel weniger sicher und gleichmässig war die Wirkung der Serotherapie da, wo sie in erster Linie mikrobicid, resp. bactericid wirken sollte. Das Serum gegen die Rinderpest übertrifft, wie wir sehen werden, in seiner sicheren Wirkung, sowohl als immunisirendes wie als Heilmittel, das Diphterieserum und jedenfalls wird es von keinem mikrobicidem Serum übertroffen. Der Grund hiervon ist in erster Linie in der ausserordentlichen Empfindlichkeit und den besonderen Lebensbedingungen des Mikroben der Rinderpest zu suchen.

Es war daher von vorne herein nicht zu erwarten, dass die Stärkebestimmung des Antipestserums durch Zusammenmischen von bestimmten Mengen des virulenten Materials und Serum, wie dies z. B. bei dem Diphterieserum üblich ist, möglich sein wird. Wir haben schon im Frühjahr 1897, in unserer Publication in der Berliner klinischer Wochenschrift N° 24, mitgetheilt, dass virulentes Pestmaterial oder Blut mit dem gleichen oder doppelten Volumen immunen Rinderserum oder Pferdeserum *in vitro* zusammengemischt nicht mehr virulent ist und auch nicht immunisirt.

Um die Stärke des Serums gegen die Rinderpest zu bestimmen, haben wir das gleiche Princip, wie bei der Bestimmung der Stärke des Serums gegen Cholera, Typhus oder Streptococcen üblich ist, angewendet. Das von mehreren Thieren gesammelte Serum, die annährend auf gleiche Weise immunisirt wurden, d. h. ziemlich die gleiche Menge Pestblut erhalten haben, wird zusammengemischt, sodann werden 10 Rinder mit der gleichen Menge, d. h. mit 0,2 c.c. desselben Pestblutes, inficirt und 2 Stunden nach der Injection erhalten je 2 Thiere je 10—20—30—40—50 c.c. des gemischten Serums. Je nach dem Gehalte an Schutzstoff in demselben erkranken z. B. die Thiere, welche nur 10 c.c. Serum erhalten haben und gehen an Pest zu Grunde. Diejenigen welche 20 c.c. erhalten haben, erkranken ziemlich schwer mit Bildung von Erosionen und Durchfall, bleiben aber am Leben. Diejenigen, die 30 c.c. erhalten haben, zeigen nur an einem oder zwei Tagen meistens am 5ten bis 8ten Tage, eine Temperaturerhöhung über 40° ohne weitere Erkrankung. Diejenigen aber, die 40 c.c. und darüber Serum bekommen haben, zeigen überhaupt keine sichtbare Reaction. KOLLE und TURNER, die nach gleichem Principe die Stärke des Serums bestimmten, wählten engere Intervalle, von 5 zu 5 c.c. Serum, und benutzten für jede Bestimmung nicht 2, sondern 3 Thiere. Es ist nicht zu leugnen, dass dadurch noch präcisere Bestimmung der Stärke des Serums erreicht wird. Auf diese Weise hat der Praktiker es vollkommen in seiner Hand, den Verlauf der Immunisation zu reguliren.

Will er active Immunität ohne jede Erkrankung erzielen, so empfiehlt es sich, entsprechend höhere Dosen zu injiciren. Wir halten die letzte Art der Immunisation als die zweckmässigste. Es wird dadurch :

1) Jede Gefahr einer Verbreitung der Infection durch die Ausscheidungen der Thiere vermieden; 2) was namentlich für die Milchwirtschaft von Bedeutung ist, wird die Milchsekretion nicht im mindesten beeinflusst. Durch eine Reihe von Versuchen haben wir gefunden, dass, wenn milchende Kühe während der Immunisation fiebern, die Milchsekretion herabgesetzt wird. Sorgt man jedoch, dass während der Krankheit die Thiere regelmässig gemolken werden, so verlieren selbst schwer an der Pest erkrankte Kühe nicht vollkommen die Milch und nach Ablauf des Fiebers und vollkommener Erhohlung kehrt die Michsekretion auf das ursprüngliche Quantum zurück, und 3) trächtige Thiere abortiren nicht, was bei Kühen, die in Folge der Immunisation stark erkranken, sehr häufig der Fall ist.

## Die Serumimmunisation.

Mittelst Serum können die für Rinderpest empfänglichen Thiere auf dreierlei Weise immunisirt werden. 1) Mit Serum allein, 2) Mit Serum und Pestblut und 3) Durch Serum nach der Infection mit Pestblut und erfolgter Erkrankung am 1ten bis 3ten Fiebertage.

### 1) Immunisation mit Serum allein.

Dass das Serum von Thieren, die die Rinderpest überstanden haben, immunisirende Eigenschaften hat, davon haben wir uns schon gleich beim Beginn unserer Untersuchungen überzeugt. Im Februar 1896 haben wir mittelst Schafserum eine Färse immunisirt, welche seither oftmal Pestmaterial, respective Pestblut erhielt und von der wir auch das erste starke Serum bekamen und uns überzeugten, dass fortgesetzte Injectionen steigender Dosen virulenten Pestblutes die Stärke des Serums erhöhen. Anfangs, als wir noch mit schwachem Serum arbeiteten, fanden wir, dass davon zur Immunisirung von 1 bis 2 jährigen Kälbern mindestens 200 c.c. nothwendig sind. Als wir später ein Serum erhielten, wovon 20 c.c. nach der Infection mit 0,2 c.c. virulenten Blutes genügten, um ein erwachsenes Rind reactionslos zu immunisiren, fanden wir, dass die Injection von 50 c.c. solchen Serums allein zur Immunisation erwachsener Thiere genügten. Die Immunität beginnt 8 Tage nach erfolgter Seruminjection. Durch besondere Versuche haben wir constatirt, dass am 3, 4, 5ten Tage nach der Seruminjection, die Thiere, in Contact mit pestkranken Thieren gebracht,

ebenfals an der Pest erkrankten. Wir sahen ferner, dass je grösser die Serumdose, um so sicherer und dauerhafter die erworbene Immunität ist. Nach Dosen von 50 c.c. starken Serums zeigten von 18 Thieren 3 Stück, 3 Wochen später in Contact mit pestkranken Thieren gebracht, Temperaturerhöhung bis 41°, so dass ihnen nachträglich noch Serum injicirt werden musste. Während 10 Thiere, die 150 c.c. von gleichem Serum erhielten, in Contact mit kranken Thieren gelassen, bei einer Beobachtungsdauer von 3 Monaten gesund blieben und als sie hierauf durch Injection von 0,5 c.c. Pestblut geprüft wurden, reagirten sie gar nicht. Wir würden daher zur Immunisation mit Serum allein die Injection für ein erwachsenes Thier von 300 Kilo Körpergewicht eine Dosis von 150 c.c. starken Serums für genügend erachten, um ihm auf 3 bis 4 Monate Immunität zu verleihen. Wir haben die Dauer solcher Immunität nicht genau bestimmt. Möglich ist es, dass sie ein halbes Jahr und darüber anhält. Speciel angestellte Versuche werden uns in der nächsten Zeit hierüber Aufklärung verschaffen.

**2) Immunisation mit Pestblut und Serum.**

Bei der Prüfung der Frage, in welchem Zeitpunkt nach erfolgter Infection, respective Erkrankung, das Antipestserum die beste, heilende Wirkung entfaltet, fanden wir, dass, je später die Serumbehandlung begann, um so grössere Quantitäten davon nöthig wurden. Kolle und Turner, welche die gleiche Beobachtung machten, injiciren daher gleichzeitig das virulente Pestmaterial und das Serum, indem sie nur die Regel beobachten, dass die beiden Injectionen an nicht zu nahen Stellen des Körpers geschehen. Wir ziehen es vor, zuerst das Pestmaterial und wenige Stunden darauf, wo man annehmen kann, dass das injicirte Virus im ganzen Körper verbreitet ist, erst dann das Serum zu injiciren. Gewöhnlich machen wir die Seruminjection 2 Stunden später.

Hat man z. B. 100 Stück Rind zu immunisiren, so beginnen wir mit der Bluteinspritzung, welche Operation für 100 Stück etwa 2 Stunden in Anspruch nimmt, und hierauf die Seruminjectionen an einer anderen Körperstelle, so dass die Immunisation von 100 Stück in etwa 4 Stunden beendet ist. Die Haare an der Injectionsstelle werden geschoren und die Haut gründlich desinficirt. Grosses Gewicht ist darauf zu legen, dass das injicirte Pestblut frei von Spaltpilzen und anderen Mikroben ist. Am zweckmässigsten wird dazu Blut aus der Jugularvene in gesättigte Kochsalzlösung (1 Theil Salz, 9 Theile Blut) und zwar von einem pestkranken Kalbe am 3ten Fiebertage entnommen. Es ist für die afrikanischen Verhältnisse recht characteristisch, wenn die Herren Kolle und Turner

das zur Infection nöthige Blut in ihren Instructionen den Farmer selbst entnehmen lassen und, um das Pestmaterial zu versenden, pestkranke Schafe oder Kälber auf weite Strecken hin verschicken. In Russland würde ein solches Verfahren von den Sanitätsbehörden streng bestraft werden. Um Pestvirus zu verschicken, ist es nach unseren Beobachtungen am zweckmässigsten, Pestorgane und speciel Labmagen, Zungenwurzel und Milz mit 10 % Kochsalzlösung abzuwaschen und in einer weithalsigen Flasche mit eingeschliffenem Stöpsel mit 10 % Kochsalzlösung derart zu übergiessen, dass das Gefäss voll ist, in einer Blechbüchse verpackt, zu verschicken. Wir haben so in Petersburg zu jeder Jahreszeit, nach 1 bis 3 Monaten, stets virulentes Material erhalten. Die herausgenommenen Organe werden klein zerhackt, mit Salzwasser zu einem Brei angerührt, durch Mousselin filtrirt und einem Kalbe injicirt. Zweckmässig wird ein zweites Kalb zu dem inficirten gestellt, das durch Contact erkrankt und von welchem das Blut direct zu Schutzimpfungen verwendet werden kann. Ist die Stärke des Antipestserums genau bekannt, so hängt es von der Wahl des Praktikers ab, wie er, nach erfolgter Impfung von 0,2 c.c. Pestblut, den Verlauf des Immunisationsprocesses reguliren will, d. h. ob die darauffolgende Reaction eine mehr oder weiniger schwere Erkrankung offenbaren soll. Aus verschiedenen Gründen haben wir es vorgezogen, lieber eine stärkere Serumdose zu geben und die Reaction so weit zu mässigen, dass sie entweder gar nicht bemerkbar wird, oder höchstens, 5 bis 8 Tage nach der Impfung, sich durch eine kurzdauernde Temperatursteigerung documentirt. In Gegenden, wo die Rinderpest endemisch ist, herrscht die Ansicht, dass ein Rind, das die Pest überstanden hat, um so widerstandsfähiger gegen eine neue Infection ist, je schwerer die erste Erkrankung war. Uns wurde von Viehbesitzern und Veterinärärzten versichert, dass ein Rind, das eine schwere Erkrankung durchgemacht hat, mindestens für 7 Jahre, vielleicht aber für das ganze Leben immun sei. Danach sollte man denken, dass auch bei der künstlichen Immunisation, damit die Immunität möglichst lange Zeit andauere, eine recht schwere Erkrankung erwünscht sei. Wie lange aber die Immunität anhält, wenn die Thiere activ immunisirt werden, wissen wir mit Bestimmtheit nicht. Auch das ist fraglich, ob eine relativ schwere Erkrankung nothwendig ist, um eine langdauernde Immunität zu erzielen. Einzelne von uns gemachte Beobachtungen sprechen durchaus nicht dafür, dass eine jahrelang anhaltende Immunität gegen die Rinderpest nothwendig durch eine schwere Erkrankung erkauft werden muss. Wir haben aus den Organen pestkranker Thiere auch Amöben und

Flagellarten isolirt, und es war von Interesse zu ermitteln, ob die isolirten Amöben — es waren die Amöba colli und Amöba guttula — nicht in irgend einer Beziehung zu der Pesterkrankung stünden. Unsere Versuche zeigten, dass die von uns isolirten Amöben für die Wiederkäuer nicht pathogen sind. Wir haben jedoch einige Male nach Injection von Amöbenculturen bei Kälbern und Ziegen Rinderpest auftreten sehen. Wir haben uns den Befund so erklärt, dass die Amöben auch den Mikroben der Rinderpest, gleich wie die Bacterien, in ihre Leibessubstanz aufnehmen und sie abschwächen, wodurch die Immunisation zu Stande kommt. Das Interessanteste an diesen Versuchen war aber, dass die Thiere ohne jede Temperaturerhöhung immun wurden. Auf wiederholte Injectionen von virulenten Pestmaterial ebenfalls nicht einmal mit Temperaturerhöhung reagirten, durch fortgesetzte Injection des Pestblutes hoch immun wurden und ein starkes Serum lieferten. Es ist ein Factum, dass wir seither wiederholt bestätigten, dass durch langsame Steigerung des Pestvirus, Rinder ohne jede sichtbare Erkrankung hoch immunisirt werden können. Giebt man den Thieren nach erfolgter Infection mit Pestblut so viel Serum, dass sie höchstens mit vorübergehender Steigerung der Temperatur reagiren, so werden dadurch folgende wesentliche Vortheile erreicht :

1) Die Mortalität wird bei der Impfung auf Null reducirt.

2) Die Gefahr einer Verbreitung der Pest durch die Dejectionen der immunisirten Thiere ist beseitigt. Ein Umstand der bei der Ausführung der Immunisation auf einzelnen Bauern- oder Gutshöfen, wo die Desinfection für die Länge nie streng durchgeführt wird, sehr hoch angeschlagen werden muss.

3) Wir haben bei Jungvieh (Kälbern, von saugenden bis zu 2 jährigen inclusive), wenn sie nach der Pestimpfung nur schwache Serumdose erhielten, eine eigentümliche Hauterkrankung beobachtet, über deren Natur wir nicht vollkommen im klaren sind, die wir aber, auf Grund verschiedener Versuche, als eine Hautform der Pesterkrankung erachten. Die Thiere erkranken mit hohem Fieber, bis 41° und darüber; die Haut ist stark infiltrirt, bretthart und schmerzhaft. Nach 3 bis 4 Tagen lässt die Anschwellung nach und es bilden sich darauf an der äusseren Haut Pusteln, mit wenig eitriger Flüssigkeit gefüllt, welche vertrocknen und platzen, so dass die Haut mit Rissen und Borken bedeckt wird. Der ganze Process zieht sich 2 bis 6 Wochen lang hin. Mit Vorliebe ergreift die Erkrankung die nicht behaarten Stellen, so an Genitalien, am Euter, an der unteren Bauchfläche; doch werden auch die Schenkel, der Hals und der ganze Rumpf ergriffen. Wir haben mit Erfolg diese Hautaffection mit einer

Auflösung von Phenol oder Parachlorphenol in Ligroin nach vorherigem Abwaschen der Haut mit Seifenwasser behandelt. Bei Anwendung grösserer Serumdosen haben wir das Auftretten dieser unerwünschten und langwierigen Complication nicht gesehen.

Es ist eine Frage, die erst durch längere Beobachtungsdauer entschieden werden kann, ob die Immunisation ohne jede derartige Erkrankung von kurzer Dauer ist, dass es zweckmässiger sein würde, lieber die Thiere krank werden zu lassen. Um sicher vorzugehen, haben wir 10 Tage nach erfolgter Immunisation den Thieren, die keine sichtbare Reaction zeigten, 0,2 bis 0,5 c.c. Pestblut allein injicirt in der doppelten Absicht, einerseits, uns zu überzeugen, dass die Thiere wirklich immun sind, andererseits, um die Immunität zu festigen. Auf die 2[te] Virusinjection reagirten die Thiere 5 bis 10 Tage darauf nur ausnahmsweise mit einer Temperaturerhöhung, blieben aber ganz gesund. Wir geben dieser Immunisation, selbst mit nachmaliger Injection von Pestblut allein, vor der Immunisation mit Erkrankung der Thiere, die wir anfangs auch prakticirten, bis wir die Vortheile der Immunisation ohne Erkrankung erkannt haben, den Vorzug. Von den von uns immunisirten Thieren wurden 335 Stück (273 Rinder, 20 Büffel, 22 Schafe und 20 Ziegen) von der Regierung an Klöster und Private verschenkt, mit der Bedingung, dass die Thiere in den nächsten 3 Jahren nicht getödtet würden und unter Aufsicht der Regierungsveterinäre verblieben. Dadurch haben wir die Möglichkeit gesichert, die Dauer der Immunisation zu erfahren. Wieviel Serum injicirt werden soll, um Immunität ohne jede Erkrankung zu erzielen, ergiebt jedesmal die vorher ermittelte Stärke des Serums für ein Thier von mittlerem Körpergewicht, doch sind dabei noch verschiedene Factoren zu berücksichtigen. Im allgemeinen, je empfindlicher die Rasse, umso grösser ist die Menge des zu injicirenden Serums; für einjährige Kälber ist die Serumdose etwa 1/2 so gross, wie für erwachsene Thiere von 3 bis 6 Jahren. Grossen Thieren von 500 Kilo und darüber Körpergewicht ist entsprechend mehr Serum einzuspritzen. Nach unseren Beobachtungen ist das günstigste Alter für die Immunisation zwischen 2 bis 6 Jahren. Ueber 10 Jahre alte Thiere machen schwerer die Immunisation durch und sind auch hier grössere Serumdosen auzuwenden.

### 8) Die Serumbehandlung nach erfolgter Erkrankung.

Wie schon Kolle gesehen hat, kann das Serum an dem 1[ten] bis 3[ten] Fiebertage Rinderpest heilen. Am 4[ten] und 5[ten] Fiebertage ist der Heilerfolg nicht mehr sicher. Auf Grund unserer Beobachtungen können

wir diese Angabe durchaus bestätigen und die Heilwirkung des Serums könnte auch als eine besondere Variation der Immunisirung verwendet werden, zumal die dadurch erlangte Immunität eine sehr sichere ist, wenn nicht zwei wesentliche Nachtheile ein derartiges Immunisirungsverfahren für die Praxis im grossen weniger geeignet machten. Es ist erstens wünschenswerth, gleich nach erfolgter Erkrankung, wo möglich am ersten Fiebertage, das Serum zu injiciren; dabei muss, um sicher Heilung zu erzielen, die Menge des zu injicirenden Serums 5 bis 10 mal grösser sein, als wie dies bei der Immunisirung nach erfolgter Infection mit 0,2 c.c. Pestblut nöthig ist; sodann aber erkranken die Thiere, je nach ihrer Individualität, Rasse und Alter, nie gleichmässig. Wir haben z. B. 10 Stück Rinder im Alter von 3 bis 6 Jahren mit 0,2 c.c. Pestblut inficirt. 9 von den Thieren erkrankten am 5ten Tage mit der Temperatur von 40°,4 bis 41°,6 und nur eine 5jährige Kuh erkrankte erst am 8ten Tage. Alle Thiere erhielten am 2ten Fiebertage, je nach dem Körpergewicht, von 100 bis 200 c.c. Serum, wovon 30 c.c. nach Infection mit 0,2 c.c. Pestblut eine sichtbare Erkrankung paralisirten. 7 von diesen Thieren hatten nur während der nächsten 3 Tagen eine Temperatur über 40°, etwas verringerten Appetit, sonst aber keine weitere Krankheitserscheinungen und hatten sich am 5ten Krankheitstage vollkommen erholt. Die Kuh, die am 8ten Tage Abends eine Temperatur von 40°,9 und Morgens eine Temperatur von 40°,7, zeigte, erholte sich nach der Seruminjection sofort. Zwei von den Thieren, 5jährige Ochsen, die 200 c.c. Serum erhielten, zeigten Erosionen an den Lippen, Mangel an Appetit und erst 4 Tage nach der Seruminjection normale Temperatur. Bei einem dritten Ochsen, der ebenfalls 200 c.c. Serum erhielt, war nur die Maulschleimhaut hyperämisch, daneben 3 Tage lang vollkommene Appetitlosigkeit und 2 Tage lang Durchfall. 14 Tage später, als alle Thiere vollkommen gesund waren, erhielten sie je 1,0 c.c. Pestblut, worauf sie gar nicht reagirten. Da, wo es sich um Heilung nach bereits erfolgter Erkrankung handelt, ist die Heilwirkung des Serums von unschätzbarem Werthe; jedoch nur da, wo durch genaue Temperaturmessungen die beginnende Krankheit constatirt wird. Sicher kann man auf den Heilerfolg des Serums in den 2 ersten Fiebertagen rechnen. In der Praxis auf den einzelnen Bauerhöfen, wo keine Temperaturmessungen vorgenommen werden, ist das Resultat, wie zu erwarten, durchaus nicht so günstig. Wir erhielten z. B. auf der Station *Iknewi* die Nachricht, dass nicht weit von der Stadt Gori in einem Bauerhofe Rinderpest ausgebrochen sei. Wir begaben uns sofort dorthin und constatirten bei 6 Rindern die Pest. Von den

6 Stück zeigte ein 2-jähriges Kalb nur Temperatur von 41,1 sonst nichts, bei den übrigen waren ausser hoher Temperatur bereits massenhaft punktförmige Bläschen und starke Hyperämie in der Mundhöhle vorhanden. Wir unterwarfen 4 von den Thieren der Serumbehandlung, die 2 übrigen wurden als Controle nicht behandelt. Von diesen letzten verendete das eine 4 Tage später an der Rinderpest; das 2te Thier, nachdem es eine schwere Form der Pest durchgemacht hatte, wurde nach zweimonatlicher Krankheit gesund. Von den 4 mit Serum behandelten Thieren starb eine Kuh am 6ten Tage an der Pest. Die 3 übrigen, obgleich sie sämmtlich schwer krank wurden, Erosionen und Durchfall hatten, erholten sich vollkommen. Wo es sich also um einen sicheren Heileffect handelt, ist es am besten, gleich auf ein Mal eine grössere Serumdose zu geben.

Wir halten es für sehr wahrscheinlich, dass es durch fortgesetzte Untersuchungen gelingen wird, ein noch stärkeres Serum zu erhalten und dann wird es vielleicht zweckmässig sein, die Rinder nach erfolgter Erkrankung zu immunisiren Nach längerer Vorbehandlung mit Heilserum und erst hierauf folgender Injection des Toxins, oder durch gleichzeitige Injection von Toxin und auf der anderen Körperseite von Antitoxin, ist es Herrn NIKANOROFF (1) in unserem Laboratorium gelungen, ein hochwerthiges Serum gegen die Diphterie zu erhalten. Auf der, mit unserem Laboratorium verbundenen, Abtheilung für Herstellung der Heilsera, welche unter Leitung des Herrn Dr DZIERZGOWSKI steht, werden die Pferde durch gleichzeitige Injection des Toxins und auf der anderen Körperseite des Heilserums immunisirt. Die Stärke des jetzt erhaltenen Heilserums gegen Diphterie schwankt zwischen 200—600 Einheiten in einem c.c. und es wird kein schwächeres Serum vom Institute abgegeben. Aehnlich geleitete Immunisation wird vielleicht bei der Rinderpest ebenso günstige Resultate liefern. 2 Thiere die wir auf diese Weise immunisirt haben, lieferten uns ein vorzügliches Serum, wovon 15 c.c. zur Immunisation genügten, und vielleicht würde das Serum beim Fortsetzen dieses Verfahrens noch stärker sein. Weitere Versuche nach dieser Richtung hin sind im Gange.

Obgleich die Herren KOLLE und TURNER vor uns die Thatsache publicirten, dass durch fortgesetzte Injectionen von Pestblut in steigenden Dosen ein Serum erhalten wird, das 10—20 mal stärker als das Serum nach einfach überstandener Krankheit ist, möchten wir hier nochmals

(1) Berliner klinisch. Wochenschrift 1897. No 33.

betonen, dass wir, ohne Kenntniss von den Arbeit von KOLLE und TURNER, im Sommer 1897, ebenfalls fanden, dass durch steigende Dosen virulenten Pestblutes der Gehalt an mikrobicider Substanz im Serum immunisirter Rinder bedeutend zunimmt. Im November 1897 haben wir 18 Liter Serum, nach 4 bis 5 maliger Injection von grossen Pestblutdosen, bereitet und im December des gleichen Jahres reiste der eine von uns (WYZNIKIEWICZ), damit nach Transkaukasien um dort die Immunisation im grossen Maasstabe vorzunehmen. Die erste Publication von KOLLE und TURNER erschien in der Deutschen Medicin. Wochenschrift, N° 50—51, von 9 und 16 December 1897. Unstreitig aber waren wir die ersten, welche constatirten, dass Serum von Pestthieren, gesunden Rindern injicirt, Immunität verleiht, so dass sie, hiernach mit virulentem Pestmaterial inficirt, gesund bleiben. Unsere erste Mittheilung darüber erschien im Juliheft im Jahre 1896 des russischen Archivs der Veterinärwissenschafften und in deutscher Sprache in der Berliner klinischen Wochenschrift N° 24 im Mai 1897. Ein Jahr vor uns publicirte E. SEMMER seine Mittheilung : « Zur Frage über die Aetiologie und Bekämpfung der Rinderpest », worin er wörtlich folgendes sagt : « Durch subcutane Application von Blutserum und Milch immunisirter Rinder und von Pferdeblutserum wird die Empfänglichkeit für Rinderpest nur auf einige Zeit abgeschwächt, aber nicht dauernd aufgehoben. »

## Die Immunisation der Büffel, Ziegen und Schafe.

Als Zug- und überhaupt als Arbeitsthiere werden im Kaukasus die Büffel viel höher als die Ochsen geschätzt. Sie erkranken ebenfalls, und unter gleichen Symptomen an der Pest, wie die Rinder und die durch die Krankheit verursachten Verluste sind für die Bevölkerung besonders empfindlich, da der Preis eines Büffels doppelt so hoch ist, als der eines Ochsen. Nach unseren Beobachtungen sind die Büffel gegen die Rinderpest weniger empfindlich als das Rind und daher auch leichter zu immunisiren. Das Immunisationsverfahren ist genau dasselbe wie beim Rind und ebenso wird das hochwerthige Serum durch Injectionen von immer grösseren Dosen von Pestblut auch von Büffeln gewonnen. Büffel würden sich demnach ganz besonders für Herstellung des Serums eignen, da aus ihrem Blute, fast noch besser wie aus dem Pferdeblute, die Blutkörperchen sich zu Boden senken und mehr wie 50 % Serum erhalten werden kann. Leider hat das Serum hochimmunisirter Büffel den Uebelstand, dass es für Rinder bei subcutaner Injection giftig ist, was um so bemerkenswerther ist, als dass Serum normaler gesunder Büffel diese Giftigkeit nicht hat. 50 c.c. Serum von hochimmunem Büffel, einem Kalbe

von 3 bis 4 Monaten subcutan injicirt, bewirkt eine bedeutende Temperaturerhöhung bis auf 41° und Vergiftungssymptome, wie wir sie bei der acuten Anämie beobachten. Unter zunehmender Schwäche kann der Tod am 3ten bis 4ten Tage erfolgen. Das Serum von hochimmunen Büffeln kann daher nur für Büffel, Schafe und Ziegen verwendet werden, da es für die 2 letzten Thierspecies, auffallender Weise, nicht die gleiche giftige Wirkung, wie für die Rinder, hat. Wir haben vor, Analysen von normalem und hochimmunem Büffelblut auszuführen, um Aufschluss über diese interessante Differenz zu erhalten.

Auf gleiche Weise können auch Ziegen und Schafe, die, wie bekannt, an Rinderpest erkranken, fast ohne Verlust immunisirt werden. Wir inficirten sie ebenfalls mit 0,2 c.c. Pestblut und spritzten 2 Stunden später eine halb so grosse Menge Serum ein, wie sie zur Immunisation zweijähriger Kälber erforderlich war. Ziegen und Schafe, namentlich die Fettschwanzschafe, sind für die Rinderpest noch weniger empfänglich, als die Büffel. Schon aus diesem Grunde, entgegen unserer ersten Beobachtung mit den Merinoschafen, dann aber auch wegen ihrer Körpergrösse und infolge dessen wegen der geringen Menge erhältlichen Blutes, sind diese kleineren Thiere für die Hochimmunisation wenig geeignet. Die Fettschwanzschafe in Transkaukasien verhalten sich gegen das Contagium der Rinderpest, in mancher Hinsicht anders als die Merinoschafe, mit denen wir in Petersburg arbeiteten. Während bei den letzten die Erkrankung ziemlich typisch mit hohem Fieber am 5ten Incubationstage erfolgt, erkranken die Fettschwanzschafe häufig ohne jede Temperaturerhöhung; ebenso können Erosionen auf den Lippen und in der Mundhöhle, Durchfall und dergleichen mehr, gänzlich fehlen. Die Incubationszeit ist öfters bedeutend länger, so dass die Schafe erst 3 Wochen nach erfolgter Infection erkranken. Das einzig sichtbare Zeichen, wodurch sich ein krankes Schaf vom gesunden unterscheidet, ist Traurigkeit und Mangel an Appetit. Dabei können viele Thiere zu Grunde gehen. Bei der Section der an Pest verendeter Fettschwanzschafe ist das Bild ebenso wenig charakteristisch. In der Maulhöhle können Exsudate und Erosionen gänzlich fehlen. Am häufigsten sind sie noch an der Zungenwurzel zu finden. Auch im Labmagen sind Hyperämie, Blutungen und Erosionen nicht immer constant. Charakteristisch sind nur die im Dünndarme nie fehlenden typischen Veränderungen der *plaques de Peyer*. Blutungen und Erosionen können auch hier gänzlich fehlen.

Auf Wunsch des Chefs der Veterinärverwaltung in Russland, Herrn N. P. Pestitisch, wurden in *Iknewi* auch Versuche über die Empfänglich-

keit der Kameele gegen Rinderpest angestellt. 3 erwachsene Kameele erhielten von einem pestkranken Kalbe je 1, 5 und 10 c.c. Pestblut subcutan. Das Controlkalb starb 2 Tage nach der Blutentnahme an der Pest. Das Kameel, das 1 c.c. Pestblut erhielt, blieb bei einer Beobachtungsdauer von 2 Monaten gesund. Die beiden anderen Thiere zeigten am 5ten und 6ten Tage eine Temperaturerhöhung von 39°,8 bis 40°,4 resp. 40°,0 bis 40°,5, Hyperämie in der Mundhöhle, keine Bläschen, kein Exsudat oder Erosionen. Am 7ten und 8ten Tage fiel die Temperatur ab und die Hyperämie verschwand. Von da ab waren die Thiere ganz normal, bis unerwarteter Weise das Thier, das 5 c.c. Pestblut erhielt, nachdem es noch am Abend mit Appetit gefressen und normale Kothentleerungen hatte, in der Nacht plötzlich starb, genau 3 Wochen nach der Infection.

Bei der Section fanden wir an der Unterlippe und den Seitenflächen der Zunge einige oberflächliche Defecte. Die Schleimhaut des Labmagens an der Portio pylorica zeigt in grosser Menge graugelbliche, käseartige Auflagerungen und Erosionen; das gleiche ist auch im oberen Theil des Duodenums. Die PEYER'schen Drüsen im Dünndarm sind geröthet, geschwollen, theilweise siebartig. Im Dickdarm nichts abnormes. Ebenso in den Nieren und der Milz. Die Lungen hyperämisch und ödematos.

Mit dem Herzblute des verendeten Kameels wurden, gleich nach der Section, 3 gesunde Kälber mit 1, 2, resp. 5 c.c. inficirt. Alle 3 Kälber blieben gesund, zeigten überhaupt keine Temperaturerhöhung und wurden nach Ablauf von 4 Wochen für andere Zwecke verwendet.

Aus diesem Versuche geht so viel hervor, dass wenn auch die Kameele an einer abortiven Form der Pest erkranken, sie schwerlich als Ursache der Pestverbreitung angesehen werden können.

Da das Pferdeblutserum, mit Extracten von Pestorganen oder Pestblut *in vitro* zusammengemischt, nach 24—48 stündigem Stehen die Virulenz der letzteren aufhebt, so haben wir einem Pferde pesthaltige Extracte oder Pestblut subcutan injicirt und nach 1 bis 2 Tagen von den infiltrirten Stellen die seröse Flüssigkeit entnommen und sie Kälbern injicirt. Die Thiere blieben gesund, wurden aber nicht immun. Gleiche Versuche, an Schweinen angestellt, ergaben dasselbe Resultat. Zu bemerken wäre nur, dass weder die Pferde noch die Schweine an Pest erkrankten.

### Immunisation mit Galle.

Wie R. KOCH in seinen Reiseberichten mittheilt, hat er, angeregt durch die im Oranie-Freistaat von den Farmern prakticirte Verwendung von

Galle und Blut von pestkranken Thieren, zur Schutzimpfung, Galle von an Pest verstorbenen Thieren gesunden Thieren subcutan injicirt und bei fortgesetzten Versuchen gefunden, dass Injectionen von 10 c.c. solcher Galle gesunden Thieren eine Immunität gegen die natürliche Ansteckung mit Rinderpest für eine Zeitdauer von 4—5 Monaten verleiht. Die Immunität tritt am 7ten bis 10ten Tage ein und sei so beträchtlich, dass einem Thier, 4 Wochen nach der Galleninjection, 40 c.c. Pestblut injicirt werden konnten, ohne im geringsten zu schaden (R. KOCH : Reiseberichte, S. 10, 23—27). Die anfangs von R. KOCH benutzte Galle stammte von einem Thier, welches am Tage vor der Injection auf der Experimentalstation nach 6 tägiger Krankheit an Rinderpest gestorben war; dieselbe hatte eine dunkelgrüne Farbe, war fast klar und hatte denselben Geruch wie die Galle von einem gesunden, eben geschlachteten Thier. Nach einer späteren Mittheilung der Forscher in Afrika ist es vortheilhafter, Galle von pestkranken Thieren, die nach Abfall der Temperatur getödtet wurden, jedenfalls nicht vor dem 5ten—6ten Tag des Fiebers, zu verwenden.

Wir haben in den Jahren 1895—1896, also lange vor den Versuchen R. KOCH's, Galle von an Pest verstorbenen Kälbern gesunden Kälbern in Dosen von 2—5 c.c. subcutan injicirt und in 8 Versuchen auf solche Galleninjection stets den Tod der Thiere an Rinderpest gesehen. Selbst, als wir Culturen aus Galle auf Mucin oder Peptonsalz subcutan injicirten, sind sie an typischer Pest zu Grunde gegangen. Erst Galle, die 2 Wochen lang nach dem Tode des Thieres bei Zimmertemperatur aufbewahrt und hierauf gesunden Kälbern injicirt wurde, erwies sich als unwirksam. Solche Galle hatte aber auch keine immunisirenden Eigenschaften. Kälber, die mit 2 Wochen alter Galle inficirt wurden, blieben zwar gesund, 1 Monat später aber mit pestkranken Kälbern zusammengestellt, erkrankten sie ebenfalls und gingen an Pest zu Grunde. Als wir Galle von pestkranken Thieren centrifugirten, erwies sich nicht allein der Bodensatz, sondern auch die obere klare Schicht, als virulent.

Wir haben auf der Station « *Iknewi* » an mehr als 200 Stück Rindvieh, die Gallenimpfungen, genau nach der Vorschrift von R. KOCH, sowie mit verschiedenen Modificationen ausgeführt und sind zu folgenden Ergebnissen gelangt : 1) Grüngefärbte Galle am 5ten bis 7ten Fiebertage von Thieren, die durch Verblutung getödtet wurden, entnommen, auch wenn die Schleimhaut der Gallenblase mit Erosionen bedeckt ist, ist zu der Impfung am geeignesten und kann bei Rindern in Dosen von 10 c.c. subcutan injicirt ohne jede auffällige Temperaturerhöhung oder Erkrankung, eine passive Immunität von einer Dauer von 3 bis 5 Monaten

hervorrufen, d. h. die Thiere mit pestkranken Thieren zusammengebracht, erkranken während dieser Zeitdauer an der Pest nicht. 2) Gelb oder blutigroth gefärbte Galle wird bei Thieren, die an Pest gestorben sind, in mehr als in 2/3 der Fälle gefunden. Solche Galle ist für die Immunisation nicht geeignet, da sie, gesunden Thieren injicirt, in den meisten Fällen eine schwere Erkrankung mit tödtlichem Ausgange hervorruft. Ueberhaupt ist die Immunisation mit Galle keine genügend sichere, da selbst grüne Galle, noch lebenden Thieren entnommen, manchmal schwere Pesterkrankung mit letalem Ausgange zur Folge hat. 3) Die Angabe von R. Koch, dass Thiere, die 10 c.c. Pestgalle subcutan erhielten, nach 8 bis 10 Tagen subcutane Injection von Pestblut, selbst in Dosen von 30 bis 40 c.c. ohne jeden Schaden vertragen, haben wir nicht bestätigt gefunden.

In mehr als 80 Fällen, wo wir den mit Galle nach der Vorschift von Koch immunisirten Thieren, in verschiedenen Zeitintervallen von 10 bis 40 Tagen, nur 0,2 c.c. Pestblut injicirten, erkrankten dieselben mit wenigen Ausnahmen, die vielleicht durch natürliche Immunität zu erklären sind, an schweren Pesterscheinungen : hohes Fieber, Erosionen an Maulschleimhaut und Durchfall. Allerdings sind von diesen Thieren nur wenige, nämlich nur 3, an Pest gestorben.

Auf Grund dieser Beobachtungen halten wir die Immunisation mit Galle nur da für zulässig, wo kein Antipestserum vorhanden ist. Zur Injection ist nur grüne Galle zu verwenden, vorzugsweise von Thieren, die nach Abfall der Temperatur getödtet wurden. Gelbe oder rothgefärbte Galle, so wie solche, die rothe Blutkörperchen enthält, nicht nur von Leichen, sondern auch von getödteten, pestkranken Thieren, ist für Schutzimpfungen gefährlich. So erklärt sich auch der Unterschied in den Resultaten von Koch und den unsrigen. Wir benutzten bei unseren Versuchen in Petersburg stets Galle von an Pest verstorbenen Thieren, die gelb gefärbt war.

In Anbetracht, dass die Gallenimmunisation nur eine passive und von kurzer Dauer ist, ist es von Vortheil, nach der Gallenimpfung den Thieren Pestblut, und zur Vermeidung schwerer Erkrankung, auch etwas Serum zu injiciren. Wir haben so ganz gute Resultate erzielt. Das Verfahren ist folgendes : 8 bis 12 Tage nach der Injection von Galle erhalten die Thiere 0,2 c.c Pestblut und 2 Stunden später Antipestserum von solcher Stärke, dass ohne vorherige Galleninjection diese Serummenge nicht ganz die Wirkung des Pestblutes paralisiren würde und die Thiere mit Temperaturerhöhung und Erosionen darauf reagiren würden. Die vorherige Galleninjection mildert derart den Verlauf der Reaction, dass die Thiere entweder

gar nicht oder nur mit geringer Temperaturerhöhung reagiren und nach Ablauf von 10 Tagen eine Injection von 0,2 c.c. und mehr Pestblut ohne jeden Schaden vertragen und activ, d. h. bleibend immun werden. Dieses Verfahren hat den Vortheil, dass Thiere ohne schwere Erkrankung und mit schwachem Serum den Immunisationsproces durchmachen.

Es ist daher ganz unrichtig, was Herr KOLLE sogar besonders betont, dass der Nutzen einer Blutimpfung nach der Galleninjection nicht erwiesen sei. Im Gegentheil, während die Immunität nach Galleninjection nur eine passive ist, nach KOCH 3—5, nach KOLLE 2—4 Monate, nach unseren Beobachtungen manchmal nur 2—4 Wochen andauert, erlangen die mit Galle behandelten Thiere durch die Pestblutinjection eine dauernde Immunität, erkranken nach successiver Injection von 1,0, 5,0, 30,0 c.c. und 100,0 c.c. Pestblut nicht mehr; werden activ immun und liefern bei fortgesetzter Injection von Pestblut in immer steigenden Dosen, wie dies auch KOLLE angiebt, ein hochwerthiges Serum.

Bekanntlich fand vor kurzem FRASER(1), dass die Galle giftiger Schlangen im Stande ist, grosse Mengen des Schlangengiftes zu neutralisiren. Anlässlich unserer Untersuchungen über die Entgiftung der Toxine durch die Verdaunungssäfte(2) haben wir gezeigt, dass die Entgiftung des Tetanotoxins im Darmcanal durch Gemische von Pankreassaft mit Galle in bestimmten Verhältnissen geschieht. 0,06 gr. Pankreassaft + 0,02 gr. Galle entgiften bei Bruttemperatur mehr als die 100,000 fache Dose des Tetanotoxins. Galle allein neutralisirt Tetanotoxin ebenfalls, jedoch bedarf es dazu viel grösserer Mengen, so dass 0,1—0,5 gr. Galle, nach 17 stündiger Einwirkung bei der Bruttemperatur, die 1000 fache tödtliche Dose des Tetanotoxins neutralisiren.

Bei Fortsetzung unserer Untersuchungen hierüber fanden wir, dass es die gallensauren Salze sind, die diese giftneutralisirende Wirkung ausüben. Gegenüber dem Tetanotoxin erwies sich am wirksamsten das hyocholsaure Natrium, schon weniger das taurocholsaure Natrium und am wenigsten wirkte das glykocholsaure Salz.

Rindergalle enthält 1 bis 2 % gallensaure Salze, vorwiegend glykocholsaures Natron, während der Gehalt an taurocholsaurem Natron bedeutend geringer und sehr inconstant ist. Es war nun naheliegend, zu prüfen, ob die gallensauren Salze nicht auch den Rinderpestmikroben avirulent machen. Wir vermutheten, dass vielleicht Gemische von gallensauren Salzen

(1) Centralbl. f. Bakt. 23, 40.
(2) Centralbl. f. Bakt. 23, 1898.

und Pestblut immunisirende Eigenschaften besässen. Sollte es gelingen, statt mit Galle, mit gallensauren Salzen, wenn auch nur auf einige Monate, Thiere zu immunisiren, so ist begreiflicherweise in der Immunisationslehre ein grosser Schritt nach vorwärts geschehen und der Ersatz der Galle durch gallensaure Salze würde für die Praxis von grosser Wichtigkeit sein.

Dass die gallensauren Salze Blutkörperchen auflösen, ist schon lange bekannt. Nach unseren Versuchen ist die geringste, zur Auflösung nothwendige Menge 1 Vol. 0,5 % Lösung von glykocholsaurem Natron auf das gleiche Vol. frisch defibrinirten Rinderblutes. Ziemlich dergleichen Menge bedarf es auch von taurocholsaurem Natron, obgleich die Auflösung hier etwas rascher erfolgt. Wird nun frisch entnommenes Pestblut mit dem gleichen Volumen 1 %iger Lösung eines der beiden gallensauren Salzen vermischt, so erfolgt in wenigen Minuten die Auflösung der rothen Blutkörperchen bis auf einen geringen Rest. Das Blut behält aber selbst nach 8 bis 12 Stunden seine Virulenz. Kälber, die ein bis zwei c.c. solchen Gemisches nach 6 bis 8 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur subcutan injicirt erhielten, gingen an typischer Pest zu Grunde.

Als wir aber 1 %ige Lösung des tauro- oder des glykoholsauren Natriums mit dem gleichen Volumen frischen Pestblutes vermischten und 24 Stunden bei Zimmertemperatur, d. h. bei 20—24° C. stehen liessen, hat das Blut seine Virulenz verloren, obgleich nach dieser Zeit in den Gemischen, namentlich mit glykocholsaurem Natron, noch wenige unveränderte rothe Blutkörperchen als Bodensatz enthalten waren. Wir injicirten von solchen und concentrirteren Gemischen — wir vermischten gleiche Volumina Pestblut mit 2 %, 4 % und 5 % Lösung der gallensauren Salze — erwachsenen Rindern und 1 bis 2 jährigen Kälbern 1,0 c.c. bis 10 c c. subcutan, worauf sie gar nicht, oder nur mit geringer Temperaturerhöhung, reagirten. Leider hatten diese Gemische, nach ein bis zweitägigem Stehen, keine immunisirende Wirkung. 13 Stück Rinder, die solche Gemische in Dosen von 0,5 bis 10 c.c. erhielten und die gesund blieben, wurden in verschiedenen Zeitintervallen, von 8 bis 40 Tagen später, sei es direct mit 0,2 c.c. Pestblut inficirt oder in Contact mit pestkranken Thieren gestellt. Alle diese Thiere erkrankten an schwerer Pest; 8 davon gingen zu Grunde, die übrigen 5 wurden durch Seruminjection am Leben erhalten.

Eine Erklärung, warum die Galle immunisirt, das Gemisch aber von Pestblut und gallensauren Salzen das nicht thut, wohl aber nach eintägigem Stehen nicht mehr virulent ist, hätte vorläufig nur einen hypothe-

tischen Werth. Wir glauben, dass ein wesentlicher Factor hierbei die Zerstörung der rothen Blutzellen ist. Es bedarf aber noch weiterer Untersuchungen hierüber. *A priori* war nicht zu erwarten, dass die immunisirende Wirkung der Galle eine gleichmässige sein könnte und die Injection von 10 c.c. Galle für alle Thiere genügte, um gleiche Immunität hervorzurufen. Das specifische Gewicht, resp. der Gehalt an festen Stoffen in der Galle, ist sehr wechselnd — von 1 bis 8 % festem Rückstand — und es ist nicht anzunehmen, dass die Menge der immunisirenden Substanz, respect. der Mikroben, in Gallen von verschiedenen Thieren und von so wechselnder Concentration stets dieselbe Wirkung haben wird. Nach unseren Beobachtungen ist dies auch nicht der Fall. 10 c.c. der gleichen Galle immunisiren ein Thier auf einige Monate, während ein anderes schon nach 2—3 Wochen seine Immunität verliert. Die Herren Kolle und Turner, in ihrer letzten Publication, kritisiren unsere Arbeiten über die Rinderpest in der Absicht, alle unsere Angaben mit einen Schlage zu vernichten. Unsere Laboratoriumsversuche, wo die Galle nicht Immunität, sondern Rinderpest in tödtlicher Form erzeugte, können nicht ins Feld gebracht werden gegen die Millionen positiver Immunisirungen mit Galle in der *Capcolonie, Basutoland, Deutsch-West-Afrika, Oranje-Freistaat, Transvaal*, u. s. w. Nun! Wir haben in *Iknewi* über 200 Stück Rindvieh mit Galle immunisirt und gesehen mit welchen Einschränkungen, und auch dann nicht sicher, die Immunisation mit Galle erreicht wird. Als die Regierungscommission nach *Iknewi* kam, wurden 94 Stück Hornvieh, darunter 54 Rinder, 12 Büffel, 14 Schafe und 14 Ziegen, nach der Vorschrift von Koch oder mit den von Kolle und Turner empfohlenen Cautelen immunisirt. Das Urtheil der Commission, laut dem Protocoll in ihrer Schlusssitzung vom 10ten December 1898, lautet wie folgt : « *Paragraf* 4 : Die Schutzimpfung mittelst subcutaner Galleninjection hat sehr wesentliche Nachtheile zur Folge : *a)* Die Schutzimpfung mit Galle giebt verschiedenartige und im allgemeinen ungleiche Resultate. *b)* Thiere mit Galle vaccinirt, erkranken manchmal an schwerer Pest, sogar mit tödtlichem Ausgange, weshalb diese Methode der Schutzimpfung zur Verbreitung der Seuche Anlass geben kann. Thiere die mit Galle immunisirt sind, sind nicht immer dadurch vor Erkrankung an Pest geschützt oder verlieren die erworbene Immunität in kurzer Zeit von 2 Wochen bis zu 1 Monat. *c)* Bei der Wahl zur günstigen Immunisation passender Galle müssen verschiedene Umstände berücksichtigt werden, die in der Praxis nur erfüllt werden können durch speciel damit vertrautes Personal. »

Die Gallenimpfungen nach Koch, so nützlich sie auch in Afrika gewesen sind, würden, nach unserer Ueberzeugung, in Russland die Schutzimpfungen gegen die Rinderpest nur discreditiren. Man muss bedenken, dass im europäischen Russland durch das Todtschlagen des erkrankten Viehs die Rinderpest ganz vertilgt wurde und dass die administrative Behörde und die meisten Veterinärärzte die entschiedensten Anhänger der Keule sind. Selbst der Director des Dorparter Veterinärinstitutes, C. Raupach, (wie E. Semmer (1) berichtet), der früher mit guten Erfolgen auf dem Gute *Karlowka* im Poltavaschen Gouvernement an grauem Steppenvieh Rinderpestimpfungen ausgeführt hat (mit nur 5—10 Proc. Verlusten), sprach sich gegen allen praktischen Werth der Rinderpestimpfungen, seien es Präcautions-, Schutz- oder Nothimpfungen (beim Auftreten der Rinderpest in grossen Herden grauen Steppenviehs), aus.

Russland hat nur die Rinderpest an ihren südlichen und östlichen Provinzen, wo die Krankheit von der Türkei, Persien, Afganistan und China, Jahr ein Jahr aus, eingeschleppt wird, zu bekämpfen. Für Russland musste eine Schutzimpfung ausgearbeitet werden, wo die Mortalität wo möglich gleich Null ist, und der ganze Immunisationsprocess nicht die geringste Gefahr der Seucheverbreitung bietet. Desshalb haben wir auch mit der Veröffentlichung unserer Immunisationsversuche gezögert und von den Behörden erst dann um die Erlaubniss, die Immunisation in grösserem Maasstabe ausführen zu dürfen, nachgesucht, als wir eine vollkommen sichere und gefahrlose Methode, nämlich die Immunisation mit dem Serum nach erfolgter Infection, in dem Institute für experimentelle Medicin nach jeder Richtung hin ausgearbeitet haben.

Gleich abfällig ist auch die afrikanische Kritik über unsere Untersuchungen bezüglich des die Rinderpest verursachenden Mikroben. Wir sind allerdings der Ansicht, dass reifere Forscher als Herr Kolle und Turner, ein anderes Urtheil darüber haben werden. Ohne unsere Versuche mit dem protrahirten Fieber nachzucontroliren, ohne die Schnittpräparate gemacht zu haben, erklären sie rundweg, dass wir Opfer eines Irrthums geworden sind. Wir glauben das nicht. Est ist ein billiger Ausweg nach den Beobachtungen über die Maul- und Klauenseuche von Löffler, sowie nach der letzten Arbeit von Nocard und Roux über die Peripneumonie, schlechtweg den Mikroben der Rinderpest für so klein zu erklären, dass wir ihn mit unseren Mikroskopen nicht sehen können. Dagegen sprechen aber unsere Beobachtungen, darunter auch die That-

(1) Deutsch. Zeitschrift für Thiermedecin. Bd. 22, S. 40.

sache, dass der Pestmikrobe durch die *Chamberland*'sche Kerze nicht durchgeht und es giebt viele andere Gründe, um zu begreifen, dass nicht jeder Mikrobe nach den für die Spaltpilze gefundenen Schema isolirt werden kann, aber nicht deshalb; weil er zu klein ist, um mit unseren Vergrösserungen sichtbar zu werden.

In *Iknewi* hatten wir Gelegenheit, die Versuche mit den Säckchen aus Schilfrohr, die den Herren Roux und Nocard (Ann. Pasteur, t. 12, p. 240) so schöne Resultate bezüglich der Lungenseuche gegeben haben, auch bei der Rinderpest anzustellen. Wir haben nach dem Vorschlage von Metschnikoff aus der inneren zarten Membran von Schilfrohr Säckchen angefertigt, dieselben mit einer Lösung von 10 % Pepton und 3 % Kochsalz gefüllt, hierauf im Antoclaven bei 120° sterilisirt und mit einem Tropfen Pestblutes inficirt. Die Säckchen wurden mit sterilen Seidenfäden zugebunden und 3 bis 6 Stück davon Kälbern in die Bauchhöhle versenkt, derart, dass die Seidenfäden aus der Schnittwunde herausragten und an der Aussenhaut mit Siegellack befestigt wurden. Nach 6 bis 10 tägigem Liegen der Säckchen in der Bauchhöhle wurden die Kälber getödtet und die Säckchen mit aller Vorsicht herausgeholt. Zum Gelingen des Versuches ist die erste Hauptbedingung, dass das für Infection des Säckcheninhalts verwendete Pestblut vollkommen frei von Spaltpilzen ist.

Am geeignetsten dazu ist das Blut vom 3ten oder 4ten Fiebertage, obgleich auch solches manchmal Spaltpilze enthält. Blut nach Abfall der Temperatur, oder von Leichen entnommen, eignet sich dafür gar nicht. Sodann ist es notwendig, bei der Operation keine antiseptischen Mittel zu verwenden, da dadurch der Säckcheninhalt leicht abgeschwächt, respective abgetödtet wird. In gelungenen Versuchen ist nach Ablauf von 6 bis 10 Tagen der Säckcheninhalt etwas concentrirter, so dass die Säckchen geschrumpft sind; einige davon findet man aber noch prall mit Flüssigkeit gefüllt. Während der Zeit, wo die Säckchen in der Peritonealhöhle des Thieres liegen, bleibt das Kalb gesund und zeigt höchstens am 1ten oder 2ten Tage eine geringe Temperaturerhöhung. An septischer Infection oder Peritonitis ist uns kein Thier gestorben.

Bei der mikrospischen Untersuchung des Inhalts solcher Säckchen, findet man, ausser einzelnen rothen Blutzellen, in zahlreicher Menge glänzende Körperchen zu zweien, oder in Gruppen maulbeerformartig vereint, lebhaft molecular beweglich, und dabei ihre Form verändernd, so dass sie rund, birnförmig, spitz, oder zackig erscheinen. Die grössten sind etwa 1/3 so gross wie ein rothes Blutkörperchen, daneben sieht man viel kleinere, bis zu einer Kleinheit, dass sie mit der stärksten Vergrösse-

rung kaum sichtbar sind. Die maulbeerartigen Formen erinneren an sprossende Hefezellen, welche in lebhafter Vermehrung zu Gruppen vereint sind. Bei guter Belichtung erkennt man, dass sowohl die einzelnen als wie auch die Gruppen des Mikroben von einem hellen Hof, vielleicht Kapsel, umgeben sind. Diese Gebilde sind dieselben, die wir früher in Culturen und Schnitten gesehen und abgebildet haben. Wie früher, so auch jetzt ergaben alle Färbungs- und Fixirungsversuche keine guten Bilder, da jedes Eingreifen mit Reagentien Formveränderung verursacht. Relativ die besten Bilder erhielten wir mit Osmiumsäure oder Formaiin. War das verimpfte Pestblut nicht ganz frei von Spaltpilzen, so findet man, ausser diesen glänzenden Körperchen, auch zahlreich die ersten. In zwei Fällen, wo wir den bacterienfreien Säckcheninhalt gesunden Kälbern subcutan injicirten, gingen die Thiere an Pest zu Grunde. In zwei anderen Fällen zeigten die Kälber am 4ten resp. 5ten Fiebertage Temperaturerhöhung über 40°, blieben aber, nachdem sie zwei Tage fieberten, gesund. Schafe und Ziegen sind für diese Versuche weniger geeignet. Wir haben auch die Säckchen den Kälbern am Halse in das Unterhautzellgewebe placirt, doch hat sich hier, bemerkenswerther Weise, der Mikrobe nicht entwickelt. Wir waren leider durch die Immunisirungsversuche zu sehr in Anspruch genommen und konnten diese ziemlich umständlichen Culturversuche nicht weiter fortzetzen. Unter Mitwirkung des Ministerium des Inneren und des Krieges hat der hohe *Curator* des Instituts für experimentelle Medicin *Prinz von Oldenburg* eine ständige Station zur Herstellung des Serums gegen die Rinderpest in Transkaukasien errichtet, wodurch uns die Möglichkeit geboten ist, auch die Untersuchung über den Pestmikroben weiter fortzusetzen.

## Immunisation mit abgeschwächtem Pestmaterial.

In Russland wurden wiederholt Versuche gemacht, ausser der Absperrung und Tödtung, auch durch Immunisation, der Rinderpest Herr zu werden. Von JESSEN, RAUFACH und anderen wurden zu dem Zwecke die Thiere mit abgeschwächtem Pestmaterial, sei es durch die Wärme, sei es durch chemische Agentien, geimpft und noch vor kurzem von E. SEMMER (l. c. S. 38), das Erwärmen pesthaltigen Materials auf 45—50° C. oder Abkühlen bis — 20° C. als am geeignetsten dafür empfohlen. Es war daher angezeigt, nach diesem Principe mit vervollkomneten Methoden eine Schutzlymphe gegen die Rinderpest herzustellen und ihre Wirkung zu prüfen. Um eine gleichmässige Erwärmung in allen Schichten des abzuschwächenden, virulenten Materials zu erzielen, wurde dasselbe in

ein geschlossenes Reagenzglas oder Kolben gebracht und in einem mittelst eines Regulators, genau auf die gewünschte Temperatur eingestelltem, geschlossenem Wasserbade erwärmt. Mittelst eines Rührwerkes wurde das Röhrchen mit dem Pestmaterial, während des Erwärmens, in fortwährender Bewegung gehalten. Um vergleichbare Resultate zu haben, wurde das virulente Material in allen diesen Versuchen genau eine halbe Stunde bei gewünschter Temperatur gehalten. Ohne auf die übrigen Details einzugehen, wollen wir kurz die erhaltenen Resultate resumiren.

Pestblut oder Extracte aus pesthaltigen Organen, wie Magen, Pankreas, Uterus und Milz, eine halbe Stunde lang auf 52° erwärmt, werden nicht mehr virulent, d. h. der Pestmikrobe wird darin vollkommen afgetödtet. Bei 50° und 48° ist die Abtödtung nicht ganz sicher. Die höchste Temperatur, bei welcher, innerhalb einer Stunde, keine völlige Abtödtung der Pestmikroben stattfand, war 46° C. Wir wählten daher das Erwärmen auf 46° C. während einer halben Stunde als die geeignetste Temperatur zur Abschwächung des Pestvirus, und injicirten Rindern subcutan die abgeschwächte Flüssigkeit in Mengen von 0,5 c.c. bis 5,0 c.c. Im Ganzen wurden für diese Versuchsreihe 30 Stück Rind verwendet, wovon 12 für die Organextracte (ein Theil des frischen Organs auf 4 Theile physiologischer Kochsalzlösung) und 18 Thiere für auf 46° erwärmtes Pestblut verwendet wurden. Die Wirkung des so abgeschwächten Virus war leider keine gleichmässige und gingen fast ein Drittel der Versuchsthiere an Pest zu Grunde. Der Rest blieb dauernd immun. Wie eben erwähnt, war der Hauptübelstand dieses Verfahrens die ungleichmässige Wirkung. Wir verwendeten dafür aus der Vene entnommenes Blut, kurz vor oder nach Abfall der Temperatur. Wenige Stunden nach der Entnahme wurde das Blut in den Thermostaten gebracht und auf 46° erwärmt. Es ereignete sich wiederholt, dass Rinder, mit einem halben c.c. des abgeschwächten Pestblutes inficirt, am 5ten Tage erkrankten und an Pest zu Grunde gingen, während Rinder, mit 1,0 c.c. des gleichen Blutes inficirt, leicht erkrankten und immun wurden. Offenbar wurde der in den rothen Blutzellen enthaltene Pestmikrobe, in dem ersten Falle nicht vollkommen abgetödtet; während dies, selbst in der doppelt so grossen Quantität des gleichen Blutes, der Fall war. In Anbetracht, dass wir mit Antipestserum und selbst mit der Galle weit bessere Resultate erzielten, halten wir die Immunisation, mittelst durch Wärme abgeschwächten Pestmaterials, für die praktische Verwendung als wenig geeignet.

*St-Petersburg, 18 Februar 1899.*



51.







